АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XVIII. ВЫП. 3

МАЙ — ИЮНЬ

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1949

МИКРОБИОЛОГИЯ

Главный редактор академик Б. Л. Исаченко

Зам. главного редактора чл.-корр. Академии Наук СССР
А. А. Имшенецкий

Секретарь И. Я. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

А. Ф. Войткевич, Н. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
В. Н. Шапошников

*ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ „МИКРОБИОЛОГИЯ"
ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2,
КОНТОРА „АКАДЕМКНИГА".*

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакции журнала «Микробиология»

ПАМЯТИ ПОЧЕТНОГО АКАДЕМИКА НИКОЛАЯ ФЕДОРОВИЧА ГАМАЛЕЯ

С чувством глубокой скорби встретил Советский народ сообщение о смерти 29 марта 1949 г. выдающегося ученого нашей страны — почетного академика Н. Ф. Гамалея.

Закончен большой жизненный путь крупного ученого, неутомимого исследователя, одного из основоположников отечественной медицинской микробиологии. Шестьдесят пять лет своей многогранной и плодотворной научной деятельности Николай Федорович посвятил отечественной науке, которую обогатил многими важными открытиями, явившимися исходным пунктом для дальнейших исследований в этих направлениях. Н. Ф. Гамалея может служить ярким примером ученого-новатора Сталинской эпохи, умело сочетавшего изучение глубоких теоретических вопросов с запросами практики. В опубликованных им 383 научных работах отражен богатый опыт исследователя, неутомимо прокладывающего новые пути в науке.

Н. Ф. Гамалея вместе с И. И. Мечниковым основали в 1886 г. в Одессе первую в нашей стране бактериологическую станцию, где и были подготовлены многочисленные специалисты новой тогда науки — бактериологии; в дальнейшем были открыты такие же учреждения и в других городах России. Благодаря деятельности станций антирабические прививки получили широкое распространение в России; это является несомненной заслугой Н. Ф. Гамалея.

Н. Ф. Гамалея первый обнаружил возможность передачи чумы рогатого скота фильтратами крови больных животных; тем самым им была установлена вирусная природа этого заболевания (1886 г.).

Эпидемии в дореволюционной России привлекли особое внимание Н. Ф. Гамалея. Он возглавляет учреждения по борьбе с этими заболеваниями; здесь им устанавливаются основные пути распространения инфекций, особенности их течения и одновременно разрабатывается система противоэпидемических мероприятий. Так, во время эпидемии чумы в г. Одессе в 1901 г. Н. Ф. Гамалея возглавляет борьбу с ней. Он в первую очередь проводит широкую дератизацию с помощью специальных отрядов, и в результате предпринятых им энергичных мер эта эпидемия прекратилась. Вопросы борьбы с холерой — этой частой гостью нашей страны в прошлом столетии — нашли детальную разработку в трудах Н. Ф. Гамалея. Он предложил научно-обоснованную систему противоэпидемических мероприятий для отдельных городов и поселков. Им же был разработан общий план охраны России от холеры, предусматривающий устройство и усовершенствование водоснабжения и канализации, реализовать который удалось только в послеоктябрьский период. Значительны заслуги Н. Ф. Гамалея в деле разработки мероприятий по борьбе с сыпным тифом. Им разработаны основные положения новой отрасли науки — дезинсекции.

Деятельность Н. Ф. Гамалея особенно развернулась в послеоктябрьский период. Как руководитель противооспенного Института Н. Ф. Га-

малея является инициатором введения в молодой республике закона об обязательном оспопрививании, подписанного В. И. Лениным 10 апреля 1919 г. В это время Н. Ф. Гамалея предложил интенсивный метод приготовления противооспенной вакцины, обеспечивший в годы гражданской войны прививочным материалом Красную Армию и гражданское население.

Передовые новаторские идеи находили всегда поддержку у Н. Ф. Гамалея. Он неоднократно выступал против реакционного вейсманизма-морганизма, подчеркивая прогрессивное значение для биологической науки творческого учения Мичурина — Лысенко. Еще в ранние годы своей деятельности (1894—1896 гг.) он изучал закономерности изменчивости микроорганизмов под влиянием меняющихся условий существования. Эти исследования в последние годы были им развиты с целью установления принципов направленной изменчивости. Н. Ф. Гамалея предвосхитил открытие бактериофага, обнаружив в 1898 г. бактериолизины — вещества, разрушающие микробную клетку. В 1888 г. Н. Ф. Гамалея открыл возбудителя холерного заболевания у цыплят, которого назвал Vibrio Metchnikovii.

Последние годы Н. Ф. Гамалея успешно разрабатывал вопросы лечения туберкулеза с помощью специально предложенного им препарата — микола, изучал иммунитет при злокачественных опухолях, процессы регенерации тканей, применение тканевых экстрактов для лечения. Оригинальные идеи Н. Ф. Гамалея всегда отличались глубиной их содержания и практической направленностью.

Н. Ф. Гамалея был превосходным лектором, внимательным и чутким педагогом. Его доклады и лекции, глубокие и содержательные, были насыщены оптимизмом и глубокой верой в победу науки над инфекционными болезнями. Двери его кабинета были всегда открыты для всех к нему обращающихся, он пользовался широкой популярностью у трудящихся нашей страны, к нему обращались со всех концов нашей Родины.

Н. Ф. Гамалея — организатор Всесоюзного Общества микробиологов, эпидемиологов и инфекционистов и бессменный его председатель.

Передовой ученый, верный сын своего народа, Н. Ф. Гамалея вступил в партию Ленина — Сталина.

Советская наука в лице Н. Ф. Гамалея потеряла выдающегося ученого, страстного борца за здоровье людей, борца за приоритет отечественной науки, большого патриота нашей Родины, одного из основоположников отечественной медицинской микробиологии. Его жизнь всегда будет служить примером творческого служения Родине, а память о нем останется в веках.

Редакция

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ К ИЗУЧЕНИЮ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА В ВОДОЕМАХ

С. И. Кузнецов

Целый ряд свойств озер и водохранилищ тесно увязывается с наличием в них растворенного и взвешенного органического вещества, с величиной их первичной продукции. В самом деле, наличие органического вещества теснейшим образом увязывается и влияет на кислородный режим (Кузнецов [7]). При значительном содержании сульфатов, что мы зачастую имеем в украинских водохранилищах, наличие органических веществ создает благоприятные условия к восстановлению их в иловых отложениях до сероводорода за счет деятельности десульфурирующих бактерий.

Взвешенные в воде органические вещества сильнейшим образом могут оказывать влияние также на мутность воды. Наконец, запах воды в известной мере может зависеть от развития актиномицетов и других организмов, использующих растворенное органическое вещество в качестве источника питания (Исаченко и Егорова [5]).

Таким образом, для познания ряда процессов, протекающих в водоеме, важно не только учесть общее количество растворенного и взвешенного органического вещества, но разобраться и в его качественном состоянии.

Наиболее интенсивно на всю биологическую жизнь в водоеме будет влиять поступление веществ, легко усвояемых микробным населением. Особенно резко это отмечается при поступлении в водоем значительного количества бытовых сточных вод.

Применение химических методов анализа может дать более или менее точно величину общего количества органического вещества. Качественная его дифференцировка представляет большие затруднения. Этими методами анализа во всяком случае нельзя установить, какое количество органических веществ находится в форме, легко усвояемой для бактерий.

С микробиологической стороны возможны различные подходы для изучения как растворенного, так и взвешенного органического вещества.

Наиболее актуальными являются 3 вопроса:

1. Как учесть легко усвояемое растворенное органическое вещество?
2. Как подойти к характеристике взвешенного в воде органического вещества?
3. Как учесть динамику процесса распада и синтеза органического вещества?

Задачей настоящего сообщения и является подойти к решению поставленных вопросов микробиологическим путем и по возможности установить зависимость между характером органического вещества в водоеме и соотношением некоторых групп микроорганизмов. Birge и Juday [11], исследовавшие много американских озер, а также Krogh и Lange [12] подразделяют органическое вещество водной массы на взвешенное, коллоидное и растворенное. Как известно, наименьшие колебания в течение годового цикла претерпевает растворенное органическое вещество. Однако для жизни водоема, для совершающихся в нем процессов круговорота наибольшее значение имеет та часть растворенного органического вещества, которая является доступной и легко

усвояемой для микроорганизмов. Она состоит, по мнению Waksman [13], из промежуточных продуктов распада планктона.

Определение биологической потребности воды в кислороде является практически тем методом, который дает возможность учесть количество усвояемого органического вещества. Лишь величины эти выражаются в миллиграммах кислорода, и, может быть, в некоторых случаях имело бы смысл их выразить в миллиграммах глюкозы.

Методика определения биологической потребности воды в кислороде широко распространена при санитарных исследованиях воды. Заключается она в том, что испытуемая вода тщательно аэрируется и помещается в склянку с притертой пробкой так, чтобы под пробкой не осталось пузырька воздуха. Затем инкубируется при температуре около 20° в течение 5 дней. В исходной воде и по истечении срока инкубации в ней определяется содержание кислорода. Если вода является сильно загрязненной и содержит большие количества органических веществ, то она предварительно разводится аэрированной дестиллированной водой. Процесс окисления органических веществ идет за счет деятельности автохтонной микрофлоры воды и заканчивается приблизительно в 20 дней. Однако путем многочисленных исследований было показано, что процесс этот подчиняется определенным закономерностям и может быть выражен формулой:

$$D = \frac{D_t}{1-10^{-0,1t}} \text{ мг } O_2/\text{л},$$

где D — биологическая потребность воды в кислороде в миллиграммах на литр, D_t — потребление кислорода за срок t дней, t — срок инкубации воды в днях.

Чтобы перейти от величины биологической потребности воды в кислороде к количеству усвояемого органического вещества, были поставлены опыты по следующей схеме.

1. Испытуемая вода
2. » » + N + P
3. » » + глюкоза из расчета 3 мг/л
4. » » + N + P + глюкоза

Сравнивая потребление кислорода в испытуемой воде и воде с добавлением глюкозы, можно было по разности учесть, какое количество кислорода в данных условиях опыта идет на окисление глюкозы. Приняв за единицу количество кислорода, потребного на окисление 1 мг глюкозы, можно было высчитать и количество легко усвояемого органического вещества в испытуемой воде в пересчете на глюкозу. В табл. 1 приведены данные по соотношению между общим количеством органического вещества и его легко усвояемой частью для водоемов различного типа.

Как видно из приводимой таблицы, содержание легко усвояемого органического вещества по отношению к общему может варииро вать очень заметно от 1,5—2% для дистрофных и олиготрофных озер до 10% в евтрофных озерах.

Особенный интерес представляли опыты с определением усвояемого органического вещества в воде олиготрофных озер Карелии. Как видно из табл. 2, потребление кислорода практически отсутствовало и при внесении в нее глюкозы. Только совместное внесение глюкозы и минеральных солей азота и фосфора способствовало развитию автохтонной микрофлоры и вызывало потребление кислорода. В противоположность этому в Белом озере в Косине потребление кислорода при добавке глюкозы шло так же энергично, как и при одновременном внесении азота и фосфора.

Таблица 1

Соотношение между общим количеством органического вещества в воде и его легкоусвояемой частью

Характеристика водоема	Название озера	Дата	Общее количество органического вещества в мг O_2/л	Легкоусвояемое органическое вещество		% усвояемого от общего
				в мг O_2/л	в мг глюкозы на литр	
Олиготрофные	Пертозеро	12.VIII	15,0	0,3	0,44	2
	Кончезеро	10.VIII	15,3	0,5	0,67	3,3
	Габозеро	16.VIII	15,8	0,3	0,40	1,9
Дистрофные	Торфяной карьер .	9.VII	226,6	3,96	4,25	1,3
Евтрофные	Белое озеро в Косине	2.VIII	32,1	3,06	4,25	10
	Б. Медвежье . . .	2.IX	33,7	5,16	7,16	12

Таблица 2

Потребление кислорода в воде карельских озер и Белого озера в Косине

Название озера	Длительность опыта в сутках	Потребление O_2 в мг/л			
		испытуемая вода	вода + + глюкоза	вода + + N + P	вода + + N + P + + глюкоза
Пертозеро	5	0,30	0,50	0,26	7,21
Кончезеро	5	0,50	1,05	0,48	7,94
Габозеро	3	0,24	0,24	—	—
Белое в Косине	6	2,83	5,73	2,98	6,23

Из этой таблицы следует, что в таких водоемах, как Пертозеро и Кончезеро, усвояемое органическое вещество практически отсутствует и, более того, внесенная глюкоза не разрушается из-за недостатка азота и фосфора для развития автохтонной сапрофитной микрофлоры.

Переходя к распределению бактериального населения в водоемах, мы должны сказать, что здесь имеется еще много неясного. Однако, по-видимому, основная масса бактерий находится во взвешенном состоянии и не связана с живыми представителями фитопланктона, как это стало ясно после работ Разумова [9, 10]. Трудно предположить, чтобы основная масса бактерий относилась к автотрофным организмам, не требующим для своего развития органического вещества. В связи с этим мы провели ряд анализов по сопоставлению усвояемой формы органического вещества с числом бактерий путем учета их микроскопическим методом.

Так, в 1936 г. нами были проведены опыты по сопоставлению содержания органического вещества и общего числа бактерий в Белом озере в Косине в течение вегетационного периода в поверхностной воде и в начале летней стагнации по вертикали.

Данные анализов, представленные на рис. 1 и 2, показывают хоро-

шее совпадение между общим числом бактерий и наличием в воде легко усвояемого органического вещества.

Наибольший интерес представляло сопоставить соответствующие величины для водоемов различной степени трофии.

В табл. 3 мы суммируем ряд наших анализов для олиготрофных карельских озер, мезотрофных уральских и типичных автотрофных озер Московской области, как Белое озеро в Косине и Б. Медвежье Монинского района Московской области.

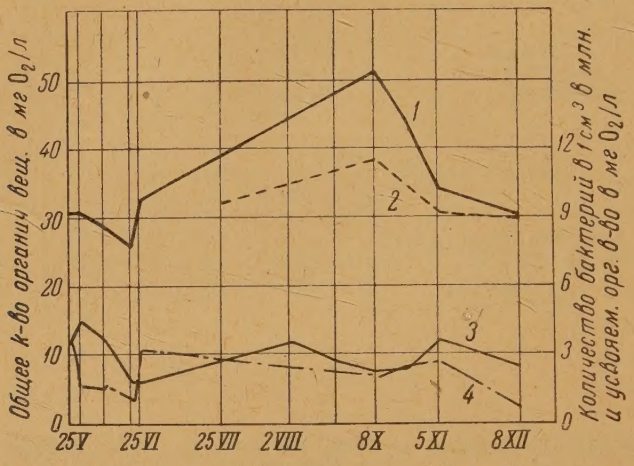


Рис. 1. Зависимость между содержанием органического вещества и количеством бактерий в воде Белого озера.

1 — общее количество органического вещества в нефильтрованной воде; *2* — то же в фильтрованной воде; *3* — усвояемое органическое вещество; *4* — количество бактерий по прямому счету

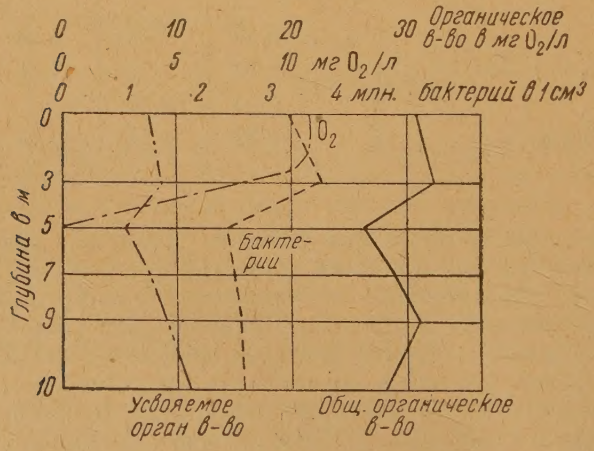


Рис. 2. Вертикальное распределение растворенного кислорода, бактерий и органического вещества в Белом озере 29 июня

Из таблицы видно, что в основном общее количество бактерий в воде связывается с наличием усвояемого органического вещества. Наблюдавшиеся нами зависимости между бактериальным населением воды и количеством усвояемого органического вещества заставили нас поставить вопрос о приуроченности определенных типов бактерий к водоемам различной степени трофии.

В самом деле, при исследовании почвенной микрофлоры, Виноград-

Таблица 3

Распределение бактерий в поверхностном слое воды озер в связи с наличием легкоусвояемых органических веществ

Название водоема	Характеристика водоема	Усвояемое органическое вещество в мг O_2/л	Число бактерий в 1 см³ в тыс.
Кончезеро	Олиготрофные	0,67	170
Пертозеро		0,44	130
Еловое	Мезотрофные	1,43	542
Ильменское		3,03	1 640
Торфяной карьер	Дистрофные	4,25	2 320
Белое озеро	Евтрофные	4,25	2 230
Б. Медвежье		7,16	3 720

ский [4], а в дальнейшем и Былинкина [1], Красильников [6], Мишустин [8] и другие показали, что по мере разрушения органического вещества сменяется и состав микрофлоры. В первую очередь наблюдается развитие бесспоровых палочек, растущих на мясопептонном агаре. По мере разрушения легко доступного органического вещества начинает преобладать процент спорообразующих форм. Так же показательными организмами для последней стадии распада органического вещества могут быть актиномицеты и микобактерии.

По данным Былинкиной [1], в почвах с энергично идущим процессом распада органического вещества показательным является и усиление нитрификационных процессов.

В связи с вышеуказанным летом 1947 г. нами было обследовано большое количество озер Московской, Калининской, Курганской и Кокчетавской областей. Общее количество бактерий мы учитывали посевом 1 см³ натуральной воды глубинным посевом на МПА. Споровые формы учитывались аналогичным образом, только посевной материал предварительно прогревался 10 минут при температуре в 80°. Подсчет выросших колоний производился на 10-й день при инкубации при комнатной температуре. Для определения нитрификационной способности 25 см³ естественной воды вносились в стерильную колбу Эрленмейера и туда добавлялось 0,1 г аммонийно-фосфорно-магнезиальной соли. Через 20 дней учитывалось количество образовавшихся нитритов. К сожалению, мы в анализах этого года по ряду технических обстоятельств не провели определений легкоусвояемого органического вещества.

Данные анализов относятся к концу мая и началу июня 1947 г., когда планктон, вообще говоря, был развит еще слабо и наиболее интенсивное его развитие было в Святом озере в Косине.

Учитывая по предыдущим анализам, что наибольшее количество легко усвояемого органического вещества находится в евтрофных озерах, мы видим, что в этих озерах встречается и наибольшее число бесспоровых форм. Их больше как в абсолютном количестве, так и относительно к споровым формам. Количество споровых форм не превышает 10%.

В мезотрофных озерах, где первичная продукция меньше и ниже интенсивность круговорота органического вещества, падает количество бесспоровых форм и вследствие этого возрастает в процентном отношении число споровых.

Наконец, в водоемах дистрофного типа, где возрастает количество растворенного органического вещества за счет увеличения его трудноусвояемой части, возрастает и абсолютное число споровых форм.

Так, по Черному озеру Калининской обл., которое окружено торфяниками и где кислотность воды возрастает до pH = 5 за счет гумино-

Таблица 4

Микробиологическая характеристика поверхностной воды ряда озер Московской и Калининской областей

(рост на МПА)

Характеристика водоема	Название озера	Общее число сапрофитов в 1 см³	Споровые сапрофиты в 1 см³	% споровых сапрофитов
Евтрофные	Черное в Косине	124	9	7,3
	Белое » »	154	15	9,7
	Святое » »	800	21	2,7
	Бельское Калин. обл.	190	5	2,4
Мезотрофные	Шитовское	46	11	24
	Коломенское	31	7	22,6
Дистрофные	Пиявочное	61	20	33
	Черное Калин. обл.	13	11	85

вых веществ, споровые организмы составляли 85% от общего числа сапрофитов. В числе бесспоровых организмов часто встречаются флуоресцирующие виды, являющиеся типичными представителями гнилостных микроорганизмов.

Таким образом, нам кажется, что значительное число бесспоровых сапрофитов может характеризовать наличие в водоеме легкоусвояемых азотистых веществ. Значительное количество споровых форм может характеризовать то, что первая стадия распада органического вещества уже прошла и минерализуются более устойчивые компоненты типа α-гуматов.

Наконец, последние стадии распада органического вещества могут быть характеризованы с микробиологической стороны усилением процессов нитрификации.

Исходя из изложенных положений, мы сделали попытку характеризовать направление процессов минерализации органического вещества в водоемах Кокчетовской и Курганской областей по материалам экспедиции Совета по изучению производительных сил страны при АН СССР 1947 г. Обследованные нами озера сильно отличаются по своему солевому составу, начиная от пресных и до самосадочных соленых озер. По содержанию солей эти водоемы могут быть разбиты на три типа: пресные с электропроводностью от 70 до $600 \times 10^{-6} \frac{1}{\Omega}$, солоноватые от 650 до $5\,000 \times 10^{-6} \frac{1}{\Omega}$ и горькосоленые от 11 000 до $55\,000 \times 10^{-6} \frac{1}{\Omega}$.

В табл. 5 приведены данные по содержанию сапрофитов в поверхностной воде этих озер и по ее нитрификационной способности.

Анализируя данные этой таблицы, можно видеть, что в группе пресных озер вообще преобладают процессы распада первой легко усвояемой группы органических веществ. Наиболее евтрофированным из этих озер является Пустынное, где сильнее, чем в других озерах, идет и распад трудноусвояемого органического вещества. Вся эта группа озер характеризуется малой нитрификационной способностью воды. Вторая группа водоемов — солоноватых — характеризуется наибольшей активностью процессов распада органического вещества. Здесь мы встречаем наибольшее число как сапрофитов, так и споровых организмов — до 260 на 1 см³ воды, что составляет до 26% от общего числа сапро-

Таблица 5

Микробиологическая характеристика поверхностной воды ряда озер Кокчетавской, Курганской и Тюменьской областей

(Анализы проведены в июле и августе 1947 г.)

Название озера	Электропроводность $K_{18} \times 10^{-6}$	pH	Общее число бактерий в 1 см³ в млн.	Число сапрофитов в 1 см³	Число споровых сапрофитов в 1 см³	% споровых от общего числа сапрофитов	Нитрифик. способность N/NO_2 в мг/л за 20 дней
Светлое	74	7,0	1,17	245	20	8,2	0,02
Горное	75	—	3,05	268	12	4,5	0,03
Боровое	96	7,8	1,53	242	30	12,4	0,03
Лебяжье	100	7,0	—	461	7	1,5	0,61
Пустынное . . .	252	9,0	—	660	42	6,4	0,17
Б. Чебачье . . .	601	—	0,19	174	6	3,5	0,03
Теренкуль	656	9,2	2,20	792	33	4,2	0,01
Пресное	1 000	7,8	1,73	720	127	17,7	4,0
Могильное . . .	2 940	8,5	12,1	3 250	93	2,9	12,0
М. Умрешево . .	2 990	9,0	12,3	1 000	260	26,0	10,0
М. Чебачье . . .	3 140	—	—	—	—	—	25,0
Б. Кривое	4 800	9,2	12,3	475	119	25,0	30,0
Майбалык	11 250	9,5	0,66	120	36	30	0,04
М. Горькое . . .	13 200	8,4	1,84	5 200	52	1,0	0,01
Балпаш	39 500	8,5	0,43	2 200	9	0,4	0,01
Оразсор	40 800	9,3	0,15	582	4	0,8	0 01
Б. Горькое . . .	55 500	9,0	0,38	1 200	9	0,7	0,02

фитов. Чрезвычайно сильно, почти в 1000 раз, возрастает нитрификационная способность воды по сравнению с первой группой озер.

Наконец, третья группа озер с высокой соленостью, в которых обычно наблюдается процесс выпадения мирабилита, и с электропроводностью в $40\,000 \times 10^{-6} - 55\,000 \times 10^{-6} \frac{1}{\Omega}$ может быть охарактеризована обильным развитием бесспоровых форм, чрезвычайно малым количеством спорообразующих и слабой нитрификационной способностью. Можно предполагать, что процессы минерализации здесь заканчиваются на первичном распаде легкоусвояемого азотистого органического вещества.

Поскольку растворенное органическое вещество в основной массе образуется в самом водоеме из оформленных взвешенных частичек, то изучение взвешенного органического вещества также представляет большой интерес. Особенно это важно для водохранилищ, предназначенных для питьевого водоснабжения, где мутность воды не должна превышать определенный, весьма низкий предел.

Таким образом, для выяснения генезиса растворенного органического вещества большой интерес представляет изучение не столько химического состава взвешенных частичек, сколько их происхождения. Представляют ли они собой частички планктона, бесформенный детрит органического происхождения или гуматы железа, вносимые в водоем с поверхностными или грунтовыми водами? Исследование взвешенных частичек имеет большое значение при изучении причин возникновения мутности в водоеме. Здесь важно решить, какой процент составляют орга-

нические частички по отношению к минеральным — глинистым частичкам или гидратам окисного железа, так как последние в некоторых водоемах могут составлять наибольший процент от взвешенных веществ.

Общее число взвешенных частичек определялось путем сравнения со стандартами мутности в мутномере Бейлиса и выражалось в миллиграммах на литр. Отдельные ингредиенты органического и минерального происхождения учитывались в микроскопических препаратах. Для этого некоторое количество воды профильтровывалось через мембранный фильтр, налет с фильтра кисточкой переносился на предметные стекла и подсушивался. Препарат подвергался двойной окраске. Сначала обрабатывался раствором, содержавшим 4% желтой кровяной соли и 5% соляной кислоты. При этом все частички, содержащие железо, окрашивались в синий цвет. Затем после промывания водой препарат окрашивался 3% раствором эритрозина на 5% карболовой воде, при этом все органическое вещество окрашивалось в красный цвет. Глинистые частички не окрашивались ни той ни другой окраской и оставались бурыми. Менее отчетливо окрашивались органо-минеральные гуматы железа. Они приобретали фиолетовую окраску. Препарат просматривался под микроскопом, и в нескольких полях зрения глазомерно учитывалось процентное соотношение неоформленных железистых частичек, железобактерий, глинистых частичек, гуматов железа, детрита, планктона и бактерий. Наблюдения были проведены по Белому озеру в Косине и Иваньковскому водохранилищу в течение вегетационного периода по ряду горизонтов на наиболее глубокой станции водоема. Данные анализов по Иваньковскому водохранилищу представлены на рис. 3. Высота столбиков показывает количество взвешенных частичек или величину мутности, а разной штриховкой показано, из чего эта мутность складывается. Так, в поверхностной воде лишь в мае и июне взвешенные вещества в основном состояли из планктона и детрита, в дальнейшем преобладали гуматы железа. На глубине 9 и 18 м основная масса органического вещества состояла из гуматов железа и лишь частично из органического детрита. Планктонные организмы наблюдались лишь в моменты циркуляции воды. Несколько иная картина получилась по Белому озеру в Косине. Данные анализов представлены на рис. 4. Здесь количество взвешенного в поверхностном горизонте органического вещества строго совпадало с интенсивностью цветения. Почти все органическое вещество состояло из представителей планктона, и лишь в мае и июне значительный процент составлял органический детрит. В противоположность Иваньковскому водохранилищу отсутствовали гуматы железа. Все железо, которое встречалось в взвешенном состоянии, было

Рис. 3. Состав взвешенных веществ в воде Иваньковского водохранилища в 1940 г.

1 — гидраты железа; *2* — глинистые частицы; *3* — гуматы железа; *4* — бесформенный органический детрит; *5* — планктон

в виде минеральной формы и обнаруживалось лишь во время начала весенней циркуляции и при полной осенней циркуляции. В противоположность поверхностному горизонту, на 7 и 12 м органические частички почти отсутствовали и основная масса мути была представлена неорганическими формами железа. Планктон обнаруживался лишь в моменты полной циркуляции воды.

Конечно, указанные величины нельзя принимать за абсолютные без соответствующих коррективов путем химического анализа, но все же для решения динамики круговорота вещества в водоеме мы можем получить целый ряд ценных указаний. Так, сравнивая два указанных

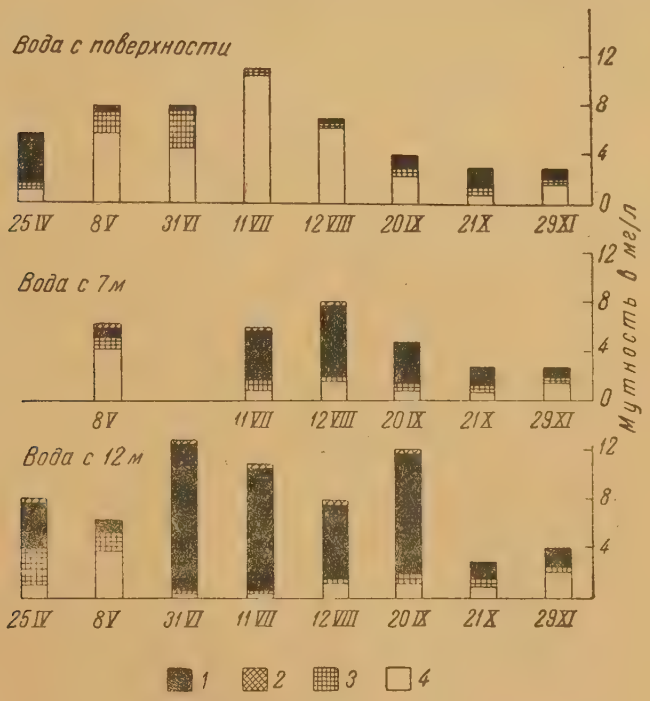


Рис. 4. Состав взвешенных веществ в воде Белого озера в 1940 г.

1 — гидраты железа; *2* — железобактерии; *3* — бесформенный органический детрит; *4* — планктон и бактерии

водоема, мы видим, что 1) планктонные организмы почти полностью успевают минерализоваться, опускаясь после отмирания на глубину 7—10 м; 2) растворенное органическое вещество в Белом озере в основном происходит из планктонных организмов, а в Иваньковском водохранилище поступает извне в виде гуматов железа; 3) содержание взвешенных частичек органического происхождения может колебаться в очень значительных пределах в течение вегетационного периода и т. д.

Наконец, биологические методы исследования дают возможность изучить и самую динамику процесса круговорота вещества в природе. В самом деле, как общее количество органического вещества в водоеме, так и его усвояемая часть являются в каждый данный момент результирующей величиной двух процессов — образования органического вещества и его разрушения. Чтобы определить интенсивность процесса распада легкоусвояемого органического вещества, нужно ту же величину биологического потребления кислорода определить в единицу времени в условиях, по возможности приближающихся к естественным, т. е. использовать метод, предложенный Винбергом [2, 3]. Нужно взять не фильтрованную воду, так как в воде, отфильтрованной от фитопланк-

тона, поглощение кислорода идет значительно интенсивнее, чем в натуральной воде, налить ее в склянку, покрытую светонепроницаемой изоляцией, и поместить ее на ту же глубину, откуда была взята вода для анализа (рис. 5). Тогда суточная величина потребления кислорода в склянке будет выражать интенсивность процесса распада легкоусвояемого органического вещества. Интенсивность процессов образования органического вещества может быть определена по приросту содержания кислорода в светлой склянке.

В табл. 6 мы приводим ряд примеров, из которых видно, что 1) чистая продукция органического вещества может быть почти одинаковой при значительной разнице интенсивностей процессов круговорота вещества в водоеме; 2) по различным водоемам процент органического вещества, участвующего в круговороте, может быть весьма различным.

Из этой же таблицы видно, что озеро Черное из группы Петровских озер, водоем дистрофного типа, вообще обладает отрицательным балан-

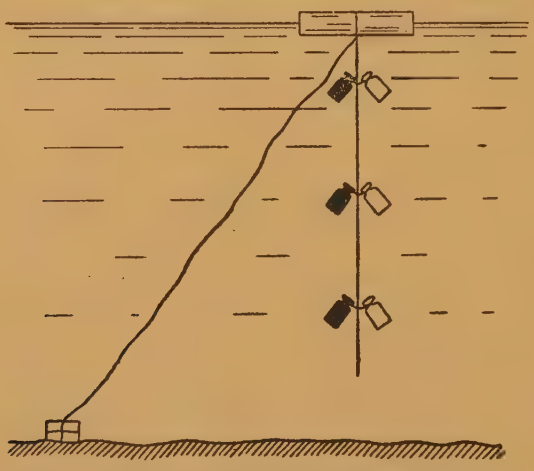


Рис. 5. Установка склянок в водоем для определения интенсивности фотосинтеза и деструкции органического вещества в водоеме методом Винберга

сом органического вещества. Процессы распада здесь идут даже в летние месяцы энергичнее, чем процессы синтеза. Далее, сравнивая озера Лебовецкое, Глубокое и Белое (анализ от 18.VII 1933 г.), мы видим,

Таблица 6

Интенсивность круговорота органического вещества в водоемах различного типа (по работам Винберга [2,3])

(Анализы относятся к периоду летней стагнации)

Название озера	Общее органич. вещество в мг O_2/л	Фотосинтез	Деструкция	Чистая продукция	% орг. веществ, участвующих в суточн. круговороте	Число бактерий в 1 $см^3$ в тыс. (микроскопич. счет)
Оз. Лебовецкое	—	0,24	0,16	0,08	—	293
Черное Петровское	—	0,05	0,20	—0,15	—	255
Глубокое Рузск. района . .	38,0	1,20	0,98	0,22	2,5	—
Белое в Косине (июль 1933)	40,0	2,22	2,24	—0,02	5,5	2 000
» » (июль 1936)	32,0	2,44	0,59	1,85	1,8	—

что при незначительной и почти равной чистой продукции круговорот органического вещества в Глубоком озере идет почти в 5 раз энергичнее, а в Белом озере даже в 15 раз, чем в озере Лебовецком.

Резюмируя все вышесказанное, мы должны отметить, что микробиологические методы исследования органического вещества в водоемах по сравнению с химическими решают ряд принципиально отличных задач. Химически мы можем сравнительно легко установить общее количество органического вещества. В случае взвешенного можем провести его компонентный анализ. Но это еще зачастую не дает возможности решить вопрос, как влияет это органическое вещество на протекание жизненных процессов в водоеме. Наиболее полно эти вопросы решаются при одновременном использовании микробиологических и химических методов анализа.

Выводы

1. Применение микробиологических методов анализа растворенного органического вещества показало, что в дистрофных и олиготрофных озерах количество усвояемого органического вещества составляет около 2—3% от общего. В евтрофных озерах этот процент возрастает до 10—15.

2. Общее количество бактерий в водоеме увязывается с количеством усвояемого органического вещества.

3. Высокая нитрификационная способность воды указывает на наличие процессов глубокого распада растворенного органического вещества и в высокой степени была отмечена для слабо засоленных евтрофных озер Курганской области.

4. Характер взвешенного органического вещества меняется в зависимости от водоема и времени года. Применение микроскопических методов дает возможность учесть планктон, бактерии, детрит и соединения железа.

5. Применение метода Винберга по учету первичной продукции и деструкции органического вещества в водоеме показывает, что в суточном круговороте может участвовать до 5% от общего органического вещества.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 7.II.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Былинкина В. Н. К познанию почвенной микрофлоры как конституционной части биоорганоминерального комплекса почв. Микробиология, IX, 129, 1940.
2. Винберг Г. Г. и Иванова А. И. Опыт изучения фотосинтеза и дыхания водной массы озера. Тр. лимн. ст. в Косине, 20, 5, 1935.
3. Винберг Г. Г. Некоторые наблюдения на гумусовых озерах. Тр. лимн. ст. в Косине, 21, 75, 1937.
4. Виноградский С. Etude sur la microbiologie du sol. Analyse microbiologique du sol, principes d'une nouvelle méthode. Ann. Inst. Past., 48, 89, 1932.
5. Исаченко Б. Л. и Егорова А. А. Актиномицеты водоемов, как одна из причин землистого запаха воды. Микробиология, XIII, 216, 1944.
6. Красильников Н. А. и Никитина Н. И. Влияние разлагающихся корней на состав микрофлоры в почве. Почвоведение, № 2, 132, 1945.
7. Кузнецов С. И. Микробиологические исследования при изучении кислородного режима озер. Микробиология, III, 486, 1934.
8. Мишустин Е. Н. О роли спороносных бактерий в почвенных процессах. Микробиология, XVII, 201, 1948.
9. Разумов А. С. Взаимоотношения между бактериями и планктоном в связи с некоторыми вопросами гигиены воды. Сб. «Вопросы санитарной бактериологии», Изд. Акад. мед. наук СССР. Инст. обществ. и коммун. гигиены, стр. 30, 1948.

10. Разумов А. С. Бактериальный планктон Клязьминского водохранилища. Сб. «Загрязнение и самоочищение водоемов», Изд. Акад. мед. наук СССР. Инст. общ. и коммун. гигиены, вып. 1, 100, 1948.
11. Birge E. and Juday C. Organic content of lake water. Proc. Nat. Acad. Sci., 12, 515, 1926.
12. Krogh A. and Lange E. Quantitative Untersuchungen über Plankton, Kolloide und gelöste organische und anorganische Substanzen in dem Furesee. Int. Rev. Ges. Hydrobiol. u. Hydrolog., 26, 20, 1931.
13. Waksman S. Aquatic bacteria in relation to the cycle of organic matter in lakes. Symposium of Hydrobiol., 86, 1941.

ОПТИМАЛЬНЫЕ ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ ДЛЯ АНАЭРОБНЫХ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫХ БАКТЕРИЙ

А. А. Имшенецкий

Как известно, целлюлоза наиболее распространенное в природе соединение, содержащее углерод. Ежегодно огромное количество целлюлозы разлагается микроорганизмами в почве, водоемах, и масштабы этого процесса позволяют его считать основным в круговороте углерода.

В результате дивергенции, происходившей в каждой крупной систематической группе, способность разрушать целлюлозу приобрели различные микроорганизмы: вибрионы, неспороносные бактерии, бациллы, миксобактерии, микобактерии, актиномицеты и грибы. Таким образом, приспособление к столь распространенному источнику углерода и энергии, как целлюлоза, привело к часто наблюдающемуся конвергентному сходству.

Обнаружить аэробные целлюлозные микроорганизмы, находящиеся в естественных субстратах, не представляет затруднений. В ином положении оказывается исследователь, стремящийся доказать присутствие в почве анаэробных целлюлозных бактерий. Нередко при групповом микробиологическом анализе почвы, воды, ила и т. п. анаэробные целлюлозные бактерии не обнаруживаются совершенно или их находят в очень небольшом числе. Это касается анализов, проведенных с помощью классических элективных сред, которые считаются наиболее подходящими для выделения анаэробных целлюлозных бактерий. Знакомясь с работами, в которых сообщается о результатах поисков различных физиологических групп микробов в естественных субстратах, нельзя не обратить внимания на сравнительно редкое нахождение бактерий, разлагающих целлюлозу в анаэробных условиях. В связи с широким распространением целлюлозы в природе эти результаты кажутся парадоксальными. Естественно возникает вопрос: объясняются ли эти результаты тем, что анаэробных целлюлозных бактерий действительно мало в исследуемых пробах или применяющиеся методы исследований не позволяют их обнаружить?

Опытам, выясняющим этот вопрос, и посвящена данная статья. Исходя из классического определения элективных сред данного Виноградским [1], основная цель применения этой среды сводится к созданию условий, благоприятных для развития только одного вида и неблагоприятных для размножения других микроорганизмов. Омелянский [4], развивая идею Виноградского, предложил элективную питательную среду для получения накопительных культур анаэробных целлюлозных бактерий. Как известно, в качестве единственного источника углерода в эту среду вносилась целлюлоза, т. е. полоски фильтровальной бумаги. На этой среде Омелянскому удалось получить накопительные культуры анаэробных целлюлозных бактерий и доказать, что эти условия выращивания дают возможность развиваться преимущественно возбудителям анаэробного разложения клетчатки. Элективные питательные среды в дальнейшем получили всеобщее признание, и нет сомнений в том, что именно их применение дало возможность сделать ряд ценных открытий, в частности изучить процесс брожения клетчатки, выделить ряд новых возбудителей аэробного разложения целлюлозы и т. д.

За последние годы усилилось изучение физиологии питания микроорганизмов и начала обособляться новая ветвь микробиологии, именно экологическая микробиология. Новые данные и новые подходы позволили внести некоторые коррективы в наши представления о биологии различных физиологических групп микробов. Становилось все более и более очевидным, что элективные среды очень далеки от условий, в которых находится выделяемый микроорганизм в природе. На основании теоретических соображений мало вероятно существование естественных субстратов, полностью лишенных органического вещества или содержащих только одно углеродистое соединение. В равной мере в природных условиях мы почти не сталкиваемся с развитием чистой культуры только одного вида. Поэтому с экологической точки зрения применение элективных сред не свободно от возражений. Применяя элективные среды, следует различать, употребляются ли они для получения накопительной культуры, содержащей преимущественно один вид бактерий, или элективная среда применяется для обнаружения возбудителей определенного процесса, т. е. для констатации представителей известной физиологической группы микробов. Как мы увидим ниже, эти задачи различны и классические элективные среды не всегда пригодны для второй цели.

Обычно количество анаэробных бактерий, сбраживающих целлюлозу, устанавливается путем посевов на элективные среды. Однако эти среды имеют два существенных недостатка.

1. В качестве источника азота в элективные среды вносятся аммонийные соли, а единственным источником углерода служит фильтровальная бумага. Естественно, что такой состав среды исключает возможность роста подавляющего большинства бактерий. Теоретически должны были бы развиваться одни целлюлозные бактерии, однако их накопительные культуры всегда содержат ряд посторонних видов. Развитие последних объясняется двумя причинами. Вначале некоторое число бактерий начинает развиваться за счет органического вещества, внесенного с посевным материалом (почва, ил и т. п.), и за счет примесей, всегда имеющихся в фильтровальной бумаге. В дальнейшем, как только целлюлозные бактерии начнут свою деятельность, посторонние бактерии получат возможность развиваться за счет продуктов разложения целлюлозы. Обычно разрушение целлюлозы не производится чистыми культурами. Как правило, этот процесс носит симбиотический характер. Взаимоотношения между целлюлозными бактериями и сопутствующей микрофлорой были изучены ранее (Имшенецкий и Боярская [3]). При этом оказалось, что бактерии-спутники потребляют продукты разложения целлюлозы (глюкозу, целлобиозу, спирт, органические кислоты) и, снижая концентрацию этих веществ в среде, дают возможность целлюлозным бактериям быстро размножаться. Этим не ограничивается благоприятная роль сопутствующей микрофлоры. Последняя, развиваясь, снижает окислительно-восстановительный потенциал среды и одновременно обогащает среду продуктами автолиза собственных клеток. Все это значительно улучшает условия существования для анаэробных целлюлозных бактерий. В свою очередь сопутствующая микрофлора, как уже указывалось, использует продукты жизнедеятельности целлюлозных форм в качестве источника питания и энергии. Таким образом, разложение целлюлозы может служить классическим примером симбиотических взаимоотношений в мире микробов. В процессе работы неоднократно приходилось наблюдать, что брожение целлюлозы в чистых культурах происходит медленнее, чем в обогащенных, т. е. в условиях симбиоза. Применяя элективные среды, мы ограничиваем возможность возникновения симбиоза. В этом одновременно и преимущество и недостаток элективных сред.

2. Изучение физиологии питания чистых культур термофильных целлюлозных бактерий выяснило, что они не способны размножаться на сре-

дах с неорганическим азотом. Для их развития необходимы субстраты, содержащие белки, печеночный экстракт, дрожжевой автолизат или фекальный экстракт. Эти вещества надо прибавлять к минеральной среде в очень значительных количествах. Повидимому, в данном случае вносятся не только витамины, но и белки, необходимые для роста анаэробных целлюлозных бактерий. Это подтверждается тем, что добавление этих веществ в небольшом количестве в среды с минеральным азотом не делает их пригодными для развития целлюлозных бактерий. Эти выводы были в дальнейшем подтверждены Дементьевым [2], который установил, что внесение в почву белка резко ускоряет процесс разложения целлюлозы. На основании неопубликованных данных я пришел к выводу, что термофильные анаэробные бактерии, разлагающие целлюлозу, представляют собой только термофильную расу мезофильных анаэробных бактерий. В физиологическом же отношении они очень близки, и поэтому все сказанное относится к обеим группам. Таким образом, применение элективных сред с минеральным азотом исключает возможность получения чистой культуры и только развитие бактерий-спутников, накапливающих белок, необходимый для роста целлюлозных бактерий, делает возможным развитие последних.

Исходя из двух предпосылок, изложенных выше, были начаты исследования по сравнительной оценке элективной среды и белковых питательных сред с клетчаткой, которые в дальнейшем называются оптимальными.

Методика

Микробиологическому анализу были подвергнуты образцы различных почв, конского навоза и грунта водоемов. Один грамм исследуемого образца вносился в 9 см³ стерильной водопроводной воды. Таким путем получалось разведение 1 : 10. Затем производились дальнейшие разведения: 1 : 100, 1 : 1 000, 1 : 10 000, 1 : 1 000 000. Из каждого разведения посевной материал в количестве 0,1 см³ вносился в пробирки с клетчаткой. В исследованиях применялись высокие пробирки — 2,5 × 30 см, на дно которых предварительно вносились кусочки фильтровальной бумаги и мел. В пробирки наливалась питательная среда высоким слоем.

В качестве элективной питательной среды применялась среда Омелянского. Необходимо указать, что в оригинальной прописи, т. е. в работе Омелянского [4], не указывается точно, какими солями пользовался автор, а говорится вообще о фосфорнокислом аммонии и фосфорнокислом калии. Соответствующие определения pH, произведенные со средой, содержащей одно-, двух- или трехзамещенный фосфорнокислый аммоний и двухзамещенный фосфорнокислый калий (во всех трех случаях), выяснили, что при однозамещенном аммонии pH равен 7,1, при двухзамещенном 7,7 и при трехзамещенном 8,3. Значительная щелочность последней среды делала ее малопригодной. Так как другие применявшиеся нами среды имели pH = 7,1, то основные наши опыты были проведены со средой Омелянского, содержащей однозамещенный фосфорнокислый аммоний. Таким образом, сравнивались среды, различные по своему составу, но имеющие одинаковую реакцию. Дополнительно некоторое число образцов было посеяно на среду Омелянского с двухзамещенным фосфорнокислым аммонием. Результаты при употреблении сред, содержащих однозамещенный или двухзамещенный аммоний, были одинаковыми. Состав элективной среды Омелянского, применявшейся нами, был следующим: $(NH_4)H_2PO_4$ — 1 г; K_2HPO_4 — 1 г; $MgSO_4$ — 0,5 г; NaCl — следы; дестиллированной воды 1 000 мл.

Для выделения накопительных культур термофильных целлюлозных бактерий употреблялась оптимальная среда VL: $NaNH_4HPO_4 \cdot 4H_2O$ — 1,5 г; KH_2PO_4 — 0,5 г; K_2HPO_4 — 0,5 г; $MgSO_4$ — 0,4 г; NaCl — 0,1 г;

$MnSO_4$ и $FeSO_4$ — по 1 капле 1% раствора; пептона — 5,0 г; водопроводной воды — 1 000 мл; фекального экстракта (10%) — 330 мл.

Для обнаружения мезофильных анаэробных целлюлозных бактерий была применена очень несложная по своему составу среда. В пробирки с целлюлозой и мелом наливался мясопептонный бульон, разведенный наполовину водой. Эта среда обозначается ниже как 50% МПБ. В некоторых опытах бульон разводился еще больше и среда состояла из 30% МБП и 70% водопроводной воды. Эти среды в дальнейшем называются оптимальными. Как уже указывалось, фильтровальная бумага и мел вносились одним и тем же способом независимо от состава среды. При выделении термофилов посевы выдерживались при 60°. Мезофильные целлюлозные бактерии культивировались при 30°. Посевы сохранялись в течение 60 дней. Регистрация результатов производилась систематически в течение всего срока наблюдений. Во всех опытах превращение кусочков фильтровальной бумаги в аморфную массу, лежащую тонким слоем на дне пробирки, служило доказательством развития целлюлозных бактерий. В ряде случаев производилась микроскопия бумаги, особенно в начальных стадиях ее разложения, когда края кусочков приобретают желтую окраску и бумага становится «вялой».

Опыты с термофильными целлюлозными бактериями

В 1938 г. мной совместно с Сироткиной изучалось распространение термофильных целлюлозных бактерий в различных почвах, а также в содержимом кишечника травоядных и хищных животных. Эти исследования не были закончены, но они позволили установить ряд фактов, использованных мной через десять лет при проведении данной работы. Посевы изучаемых образцов на различные среды выяснили, что в зависимости от состава питательной среды в одном и том же образце обнаруживается различное количество термофильных целлюлозных бактерий. Среди испытанных сред были, в частности, среда Омелянского, предложенная им для анаэробных целлюлозных бактерий, и среда VL, содержащая много различных органических веществ. Ее состав был приведен выше при описании методики. Результаты одного из опытов приведены в табл. 1.

Таблица 1

Посев одних и тех же проб почвы на среду VL и среду Омелянского

Образец почвы	Среда VL						Среда Омелянского					
	№ пробирки	разведения и начало брожения целлюлозы (в днях)					№ пробирки	разведения и начало брожения целлюлозы (в днях)				
		1 : 10	начало брожения	1 : 100	начало брожения	1 : 1 000	начало брожения		1 : 10	начало брожения	1 : 100	начало брожения	1 : 1 000	начало брожения
Почва № 32	1	+	2	+	4	+	—	1	+	7	—	—	—	—
	2	+	2	+	4	—	—	2	+	10	—	—	—	—
Почва № 34	1	+	2	+	3	—	—	1	—	—	—	—	—	—
	2	+	2	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—
Почва № 48	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—
	2	—	—	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—
Почва № 36	1	+	2	+	2	—	—	1	+	5	—	—	—	—
	2	+	3	+	2	—	—	2	—	—	—	—	—	—
Почва № 44	1	+	3	—	—	—	—	1	—	—	—	—	—	—
	2	+	3	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—

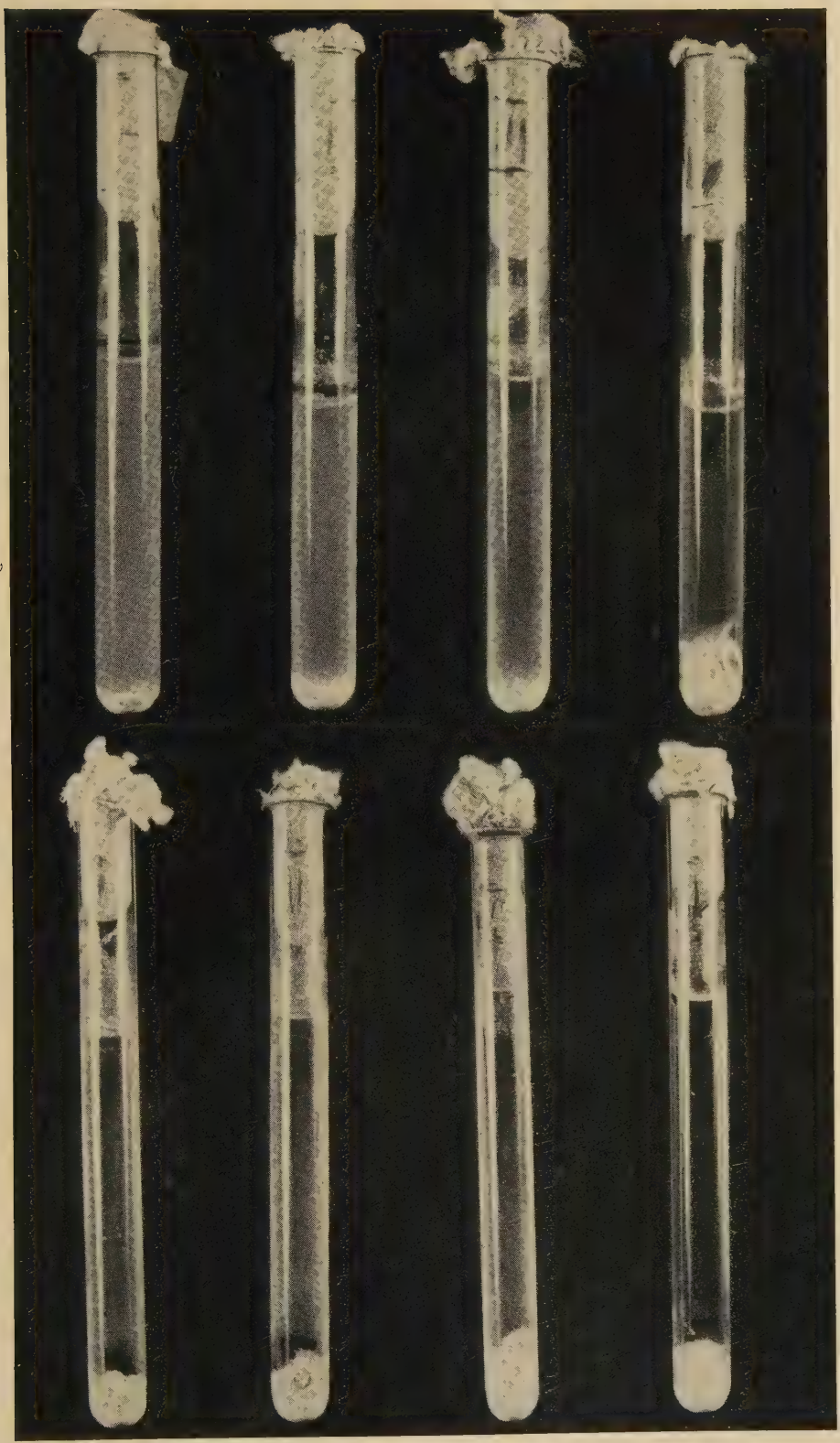


Рис. 1. Вверху—пробирки с оптимальной питательной средой. В первых трех пробирках целлюлоза полностью сброжена. Внизу — отсутствие роста целлюлозных бактерий на элективной среде. Фильтровальная бумага не изменена (первые пробирки — посев 0,1 см³ разведения почвы 1 : 1000; вторые — 1 : 10 000, третьи — 1 : 100 000 и четвертые — 1:1 000 000)

Рис. 2. Посев оранжерейной почвы. Справа — оптимальная среда — клетчатка вся разрушена. Слева — элективная среда — брожения целлюлозы нет (посев 0,1 см³ разведения 1 : 1 000)

Эти данные позволяют сделать следующие выводы.

1. При посевах на среду VL присутствие термофильных целлюлозных бактерий удалось констатировать в 14 случаях, тогда как на среде Омелянского брожение целлюлозы наблюдалось в 3 пробирках.

2. Брожение на среде VL начиналось всегда на 2—4-й день, а на элективной среде позже (5—10-й день).

3. Применение среды VL позволяет обнаружить присутствие анаэробных целлюлозных бактерий в тех случаях, когда посев на элективную питательную среду дает отрицательный результат во всех разведениях.

Таким образом, на питательной среде, содержащей в качестве источника углерода не только целлюлозу, но и ряд других веществ, термофильные целлюлозные бактерии обнаруживаются значительно чаще. Отказавшись от применения элективных питательных сред, можно получить более точные данные о распространении в природе термофильных бактерий, сбраживающих целлюлозу.

Ряд лет спустя эти исследования были продолжены, но вместо термофилов производились поиски мезофильных анаэробных целлюлозных бактерий.

Опыты с мезофильными целлюлозными бактериями

Первая серия опытов была поставлена с целью сравнить элективную среду и оптимальную белковую среду с целлюлозой. Для этого в эти среды были посеяны параллельно одни и те же разведения исследуемых образцов почвы. Результаты этих опытов приведены в табл. 2.

Данные, приведенные в таблице, убеждают нас в том, что при посевах почвы на разбавленный мясопептонный бульон с целлюлозой мезофильные целлюлозные бактерии закономерно обнаруживаются гораздо чаще. Посевы этих же проб почвы на элективную среду либо совсем не вызывают брожения целлюлозы, либо присутствие бактерий удается обнаружить только в гораздо более низких разведениях (рис. 1 и 2). Это — основной вывод, который можно сделать на основании проведенных опытов.

Дополнительно следует указать, что в тех случаях, когда целлюлоза разлагается в обеих средах, ее брожение на оптимальной среде начинается гораздо раньше, чем на элективной среде. Брожение клетчатки на белковой среде протекает более интенсивно, и в течение короткого срока вся целлюлоза превращается в аморфный осадок, лежащий на дне пробирки тонким слоем. На элективной среде такое полное разрушение фильтровальной бумаги происходит позднее, а нередко процесс распада целлюлозы приостанавливается и кусочки бумаги остаются только «продырявленными» во многих местах или становятся «вялыми» и ослизняются только края кусочков фильтровальной бумаги. При микроскопии разлагающихся волокон целлюлозы, взятых из пробирки с белковой средой, легко обнаружить отдельные клетки целлюлозных бактерий, располагающиеся в волокне. Нередко у края волокон лежат типичные плектридиальные клетки; такая локализация весьма характерна для анаэробных целлюлозных бактерий, так как после образования спор они уже обнаруживаются вне волокон (рис. 3).

Все эти наблюдения говорят о том, что оптимальная среда является гораздо более подходящей для развития возбудителей брожения клетчатки, чем элективная питательная среда.

Следующая серия опытов должна была выяснить наиболее благоприятное количество мясопептонного бульона для развития целлюлозных бактерий. С этой целью посев различных разведений (от 1 : 10 до 1 : 10 000) одной и той же пробы почвы был произведен на 1%, 5%, 15% и 30% мясопептонный бульон с клетчаткой. Разбавление бульона

Таблица 2

Посевы почвы на белковые среды с клетчаткой и элективную среду

№ опыта	Исследованный образец	50% мясопептонный бульон с целлюлозой						30% мясопептонный бульон с целлюлозой						Среда Омелянского					
		Разведения																	
		1 : 10	1 : 100	1 : 1 000	1 : 10 000	1 : 100 000	1 : 1 000 000	1 : 10	1 : 100	1 : 1 000	1 : 10 000	1 : 100 000	1 : 1 000 000	1 : 10	1 : 100	1 : 1 000	1 : 10 000	1 : 100 000	1 : 1 000 000
1	Почва из оранжереи			+	+	+	−									−	−	−	−
2	Садовая почва			−	−	−	−									−	−	−	−
3	Почва из М. Камушек	+	−	−	−									−	−	−	−		
4	Почва из оранжереи	+	+	+	+									+	−	−	−		
5	Конский навоз	+	−	−	−									+	−	−	−		
6	Ил из пруда Центр. парка культуры	+	−	−	−									+	−	−	−		
7	Почва из М. Камушек							+	+	−	+			−	−	−	−		
8	Почва из оранжереи							+	+	+	+			−	−	−	−		
9	Почва из сада							+	−	−	−			−	−	−	−		
10	Почва из клумбы							+	+	−	−			−	−	−	−		
11	Почва из Московской обл.							−	−	−	−			−	−	−	−		
12	Почва из Армении (гора Алагес)							+	−	−	−			−	−	−	−		
13	Почва с овсяного поля							+	−	−	−			−	−	−	−		
14	Почва № 7							+	+	+	−			−	−	−	−		
15	Почва из Грузии							−	−	−	−			−	−	−	−		
16	Почва подзолистая							+	+	+	−			−	−	−	−		
17	Ил из оз. Халенур							+	−	−	−			−	−	−	−		
18	Ил из оз. Андреевского							+	−	−	−			−	−	−	−		
19	Почва № 62							+	−	−	−			−	−	−	−		
20	Почва из вегетационного сосуда							+	+	+	−			+	−	−	−		
21*	Почва с овсяного поля							−	−	−	−			−	−	−	−		
22	Почва № 7							+	−	−	−			−	−	−	−		
23	Почва из оранжереи							+	−	−	−			−	−	−	−		
24	Почва из сада							−	+	+	−			−	−	−	−		
25	Почва из оранжереи							+	+	−	+			−	−	−	−		

* В опытах с № 21 по № 25 посев почвы производился на среду Омелянского, содержащую вместо однозамещенного фосфорнокислого аммония двузамещенный, pH среды = 7,7—7,8.

производилось водопроводной водой. Контрольные посевы были сделаны на среду Омелянского. Как видно из данных, приведенных в табл. 3, на среде Омелянского анаэробные бактерии не развились совершенно и, следовательно, в исследованной пробе почвы с помощью этой среды их не удается вообще обнаружить.

Таблица 3

Влияние различной концентрации мясопептонного бульона на рост мезофильных целлюлозных бактерий

Образец почвы	Содержание бульона в среде																			
	30%				15%				5%				1%				Среда Омелянского			
	Разведения																			
	1 : 10	1 : 100	1 : 1 000	1 : 10 000	1 : 10	1 : 100	1 : 1 000	1 : 10 000	1 : 10	1 : 100	1 : 1 000	1 : 10 000	1 : 10	1 : 100	1 : 1 000	1 : 10 000	1 : 10	1 : 100	1 : 1 000	1 : 10 000
Почва из М. Камушек . . .	+	+	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Оранжерейная почва . . .	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Садовая почва	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
» »	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Что же касается белковых сред, то мы видим, что только при очень высоком (30%) содержании в среде мясопептонного бульона наблюдался рост целлюлозных бактерий и произошло полное разложение клетчатки. На среде с 30% бульона в двух образцах почвы целлюлозных бактерий удалось обнаружить в разведениях 1 : 10 000. Интересно, что не только на среде Омелянского, но и на средах, содержащих 1,5% или 15% мясопептонного бульона, брожения целлюлозы не было совершенно. Эти результаты полностью совпадают с аналогичными наблюдениями, сделанными ранее по отношению к термофильным целлюлозным бактериям: только в присутствии большого количества белков или продуктов их частичного гидролиза становится возможным хороший рост анаэробных целлюлозных бактерий. Таким образом, мезофильные целлюлозные бактерии близки по своей физиологии к термофильным, так как тоже лучше развиваются на белковых средах с целлюлозой. Применяя белковые среды, можно было опасаться развития микробов, угнетающих жизнедеятельность целлюлозных бактерий. Однако с явлениями такого антагонизма сталкиваться не приходилось. Более того, в единичных пробирках в среде развивались бактерии, образующие зеленый пигмент, однако, несмотря на окрашивание среды в зеленый цвет, разложение целлюлозы протекало обычным образом. Следует отметить одну деталь. На МПБ с клетчаткой нередко на поверхности среды образуется бактериальная пленка. В дальнейшем она падает на дно и при поверхностном осмотре может быть принята за кусочек фильтровальной бумаги, начинающий разлагаться, т. е. ставший рыхлым, «вялым» и полупрозрачным.

В том, что элективная среда менее благоприятна для роста анаэробных целлюлозных бактерий, можно убедиться также следующим образом. В пробирки со средой Омелянского, в которые был произведен посев почвы, но которые простояли 60 дней и за этот срок совершенно

не наблюдалось роста целлюлозных бактерий и бумага осталась неизмененной, было добавлено 30% мясопептонного бульона. Через шесть дней в ряде пробирок началось брожение целлюлозы. Следовательно, при посеве почвы в пробирки были внесены клетки целлюлозных бактерий, но они не дали в этой среде роста. Пролежав 60 дней в покоящемся состоянии, целлюлозные бактерии после изменения состава окружающей среды стали размножаться и разложили целлюлозу.

Рис. 3. Клетки целлюлозных бактерий в волокне целлюлозы. Препарат взят из участка бумаги, окрашенного в оранжевый цвет. В контроле, т. е. на элективной среде бактерии отсутствуют

Заключение

Вопрос о том, почему анаэробные целлюлозные бактерии обнаруживаются при анализах сравнительно редко, становится более ясным. Проведенные исследования позволяют считать, что редкое нахождение этих бактерий было связано с применением сред, неблагоприятных для их развития. Наряду с понятием «элективная» необходимо ввести новый термин «оптимальная» среда. Под оптимальной следует понимать питательную среду, состав которой наиболее благоприятен для развития искомого вида в смешанной культуре. Оптимальная среда — это среда, позволяющая найти определенных бактерий там, где с помощью элективных сред они не могут быть обнаружены. Состав оптимальной среды и методы культивирования микробов должны быть основаны на знании их физиологии. Выше был приведен цифровой материал, доказывающий, что с помощью оптимальных сред можно «значительно сдвинуть» титр целлюлозных бактерий. Результаты посевов убеждают в том, что с помощью оптимальных сред можно обнаружить целлюлозных бактерий в десять, сто, а иногда и в тысячу раз в большем количестве, чем это возможно при употреблении элективных питательных сред. Установленные закономерности не уменьшают значения элективных сред. Эти среды с успехом могут применяться для получения обогащенной культуры целлюлозных бактерий, содержащей небольшое число клеток посторонних видов. Получение такой накопительной культуры — обязательный этап работы, предшествующий выделению чистой культуры. Что же касается группового анализа почвы или воды, т. е. установления количества микробов, относящихся к различным физиологическим группам, то в этом случае применение элективных сред, как мы видели, не оправдано. С помощью оптимальных питательных сред легко могут быть получены гораздо более высокие цифры. Тем самым исследователь получит данные, более близкие к истинному содержанию анаэробных целлюлозных бактерий в исследуемом образце почвы или ила.

Выводы

1. Элективные питательные среды, предложенные для анаэробных целлюлозных бактерий, неблагоприятны для их развития.

2. Для обнаружения анаэробных целлюлозных бактерий предлагается оптимальная питательная среда — белковая среда с клетчаткой.

3. С помощью оптимальной питательной среды в естественных субстратах можно обнаружить гораздо больше анаэробных целлюлозных бактерий, чем при употреблении элективных сред.

4. Применение оптимальной питательной среды дает возможность получить культуры анаэробных целлюлозных бактерий в тех случаях, когда посев на элективные питательные среды вообще не вызывает брожения целлюлозы.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 6.II.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Виноградский С. La microbiologie oecologique. Premier Congr. Microbiol. d. langue française à Paris. (Rapport présenté le 28 Octobre 1938).
2. Дементьев К. Железобактерии старорусских минеральных источников и озер. Микробиология, X, 333, 1941.
3. Имшенецкий А. и Боярская Б. Микробиология анаэробного разложения целлюлозы. III. Брожение целлюлозы как симбиотический процесс. Микробиология, VIII, 657, 1939.
4. Омелянский В. О водородном брожении целлюлозы. Арх. биол. наук, 7, 1, 1899.

МИКРОФЛОРА ЛИШАЙНИКОВ

Н. А. Красильников

Как известно, до конца 60-х гг. лишайники рассматривались как единый целостный организм; гриб и водоросли генетически связывались между собой. Предполагали, что хлорофиллоносные клетки — водоросли — происходят в лишайнике из бесцветных клеток гриба в процессе своего развития.

Только в 1867 г. русский ученый Фаминцын и его ученик Баранецкий дали правильное освещение этому столь загадочному явлению. Они первые установили двойственную природу лишайника. Экспериментально доказали, что зеленые хлорофиллоносные клетки — гонидии — являются типичными представителями водорослей. Они изолировали клетки — гонидии — из лишайникового слоевища и наблюдали их самостоятельное развитие. Эти клетки размножаются, как свободно живущие водоросли. Точно так же и изолированные грибы могут вести самостоятельное существование, если создать для них соответствующие условия.

Впоследствии эти наблюдения подтвердили многие исследователи.

В настящее время считается общепризнанным, что лишайник представляет симбиоз двух организмов — водоросли и гриба, а по Еленкину [5, 6],— сожительство двух взаимноприспособленных организмов, иными словами,— не растение, а ценоз двух подобранных в пару растений (Данилов [4]).

Генкель [1, 2, 3] со своими сотрудниками в ряде статей показал, что лишайник представляет не двух-, а трехкомпонентный симбиоз, причем в качестве третьего организма он приводит азотобактер, который, фиксируя азот воздуха, доставляет его в том или ином соединении остальным двум компонентам.

Наши специальные исследования [7] о наличии азотобактера в лишайниках дали отрицательные результаты. Было обследовано более 200 образцов разных видов лишайников, собранных в разных местах Советского Союза и с разных субстратов (каменные породы, стебли, стволы деревьев, почва и др.). Ни в одном случае мы не обнаружили азотобактера в слоевище лишайника.

Отрицая наличие азотобактера как третьего компонента в симбиозе лишайника, мы задались целью выяснить, не обитают ли в нем другие микроорганизмы.

Своеобразие строения слоевища, физиологические и биологические особенности лишайников заранее дают основание полагать, что в них должны обитать микроорганизмы. Известно, что клетки лишайников (грибы и водоросли) выделяют значительное количество органических веществ, так называемых «лишайниковых веществ», преимущественно характера кислот (щавелевая кислота и др.). Эти вещества служат приманкой для многих микроорганизмов подобно тому, как корневые выделения высших растений привлекают почвенных бактерий и других представителей микроорганизмов.

Чтобы выяснить поставленный вопрос, мы подвергли микробиологическому обследованию 225 образцов лишайника, видовой состав которых приведен в списке [1], собранных в разных местах Советского Союза —

[1] Определение лишайников произведено проф. В. П. Савичем. Им также представлен в мое распоряжение ряд образцов лишайников, собранных им и его сотрудни-

в средней полосе Союза, на Кавказе, в Средней Азии и др. (табл. 1). Лишайники собирались с разных субстратов: каменных пород (гранит, известняк, туф, базальт и др.), ветвей и стволов деревьев, почвы, деревянных и кирпичных строений и т. д.

В большинстве случаев лишайники исследовались в свежем состоянии в день сбора или на 2—3-й день. Часть лишайников обследовалась в сухом виде спустя 1—5 лет после сбора.

Методика изучения микрофлоры в лишайниках была такова: навеска в 0,5 г свежесобранного и 0,1—0,2 г сухих образцов лишайника помещалась в пробирку, промывалась трехкратно стерильной водой, с тем чтобы отмыть приставшие к поверхности слоевища частицы грязи и вместе с ними клетки микроорганизмов. После этого кусочки лишайника раздроблялись стеклянной палочкой на мельчайшие частицы до равномерной кашицы, к которой затем прибавлялся определенный объем стерильной воды с таким расчетом, чтобы получить разведение 1 : 100, 1 : 1 000 и больше, если это требовалось.

Из последних двух разведений производился посев на агаризованные среды в чашки Петри по 1 капле ($^1/_{20}$ см^3) в каждую.

В качестве питательных сред служили: 1) мясопептонный агар (МПА), 2) сусло-агар (СА), 3) среда Чапека и 4) безазотистая среда Эшби. Засеянные чашки помещались в термостат при 25—27°. На 5—7-е сутки производился подсчет выросших колоний.

Первые же посевы поразили нас обилием микроорганизмов в лишайниках. Особенно большое количество колоний вырастало на среде Эшби. Колонии при этом были ничтожно малы, едва заметны простым глазом, а многие пришлось рассматривать в лупу или при малом увеличении под микроскопом. Общее число колоний на агаризованной среде Эшби насчитывалось на 1 мг сырой массы от 10 до 50 тысяч, тогда как на МПА или СА при тех же условиях посева — от 50 до 500 колоний, т. е. в 50—100 раз меньше. В табл. 2 приведены данные подсчета на среде Эшби. При перерасчете на 1 г сырой массы лишайников мы насчитывали от 5 до 50, а в отдельных случаях до 100 млн. клеток бактерий и микобактерий.

Причины приведенных в таблице различий количественного состава микрофлоры нами не выяснены. Едва ли можно это приписать видовым особенностям лишайников. Нами нередко наблюдались такие же различия в разных образцах одного и того же вида лишайника. Скорее это обусловлено экологическими факторами, субстратом, климатическими данными и другими внешними условиями, в которых развиваются лишайники.

При сопоставлении количественных показателей микрофлоры лишайников, собранных в разных географических зонах, нам не удалось отметить резко выраженных различий. Лишайники Кавказа и лишайники средней полосы Союза имеют примерно равные количества микроорганизмов. Наблюдаемые отклонения количественных показателей как у южных, так и у северных форм одинаковы.

Основная масса микробного населения обитает внутри слоевища лишайников. На поверхности их, как правило, обнаруживается небольшое число бактерий и других микроорганизмов.

Мы тщательно промывали кусочки лишайников стерильной водой и затем в последней производили подсчет микроорганизмов методом посева на агаризованные среды в чашки Петри.

Если в 1 г растертого лишайника обнаруживалось 5—50 млн. клеток микроорганизмов, то на поверхности — примерно 1 000—5 000. Чем

ками в окрестностях Ленинграда. Считаю своим долгом выразить ему свою благодарность.

Таблица

Название организма	Место сбора	Год
Acarospora fuscata (Nyl.) Arn.	Армения	1947
» alba (Schrad.) Oxn.	Грузия	1947
» chlorophana (Wahlenb.) Mass.	»	1947
» dealbata (Nyl.) Elenk.	»	1947
» glaucocorpa (Wahlenb.) Krb.	Армения	1947
Aspicilia esculenta Mer.	Окрестности Москвы	1948
» calcarea (L.) Krb.	Армения	1947
» fruticulosa Mer.	Армения и окрестности Москвы	1948
» cenerea (Pers.) Th. Fr.	Армения, Грузия	1947
Candelaria concolor (Dicks.) Wain.	» »	1947
Candelariella vitellina (Ehrh.) Müll.	» »	1947
Cetraria islandica (L.) Ach.	Моск. и Ленингр. обл.	1940—1948
» nivalis (L.) Ach.	Тундра Сибири	1941
Cladonia alpestris (L.) Rabenh.	Средняя полоса СССР	1948
» amaurocraea (Flk.) Schaer.	» » »	1948
» crispata (Ach.) Flot.	» » »	1948
» convoluta (Lam.) Suza.	» » »	1948
» cornuta (L.) Schaer.	» » »	1948
» deformans Hoffm.	» » »	1948
» fimbriata (L.) Fr.	» » »	1948
» floerkeana (Fr.) Sommerf.	» » »	1948
» pyxidata (L.) Fr.	» » »	1948
» rangiferina (L.) Web.	» » »	1948
» sylvatica (L.) Hoffm.	» » »	1948
Dimelaena oreina (Ach.) Krb.	Армения	1947
Diploschistes ocellatus (Will.) Norm.	Армения и Грузия	1947
Evernia furfuracea (L.) Mann.	Средняя полоса СССР	1941
» prunastri (L.) Ach.	» » »	1941
Fulgensia fulgens (S.) Ach.	Армения	1947
Gyrophora cylindrica (L.) Ach.	»	1947
» polyphyla (L.) Flet.	»	1947
» rugyfera (Nyl.) Th. Fr.	»	1947
» vellea (L.) Ach.	»	1947
Lecanora frustulosa (Dicks.) Schaer.	»	1947
» allophana (Ach.) Nyl.	Ленингр. и Моск. обл.	1940—1948
Lecidea lithophila (Ach.) Th.	» » » »	1940
Leptogium saturnium (Dicks.) Nyl.	» » » »	1948
Lobaria pulmonaria (L.) Hoffm.	» » » »	1940
Nephroma arcticum (L.) Tuckm.	Южный Сахалин	1946
Parmelia physodes (L.) Ach.	Ленингр. и Моск. обл.	1940—1948
» sulcata Tayl.	» » » » и Грузия	1940—1948
Parmeliopsis aleuritas Lett.	То же	1940—1948
Peltigera canina (L.) Hoffm.	Ленингр. и Моск. обл.	1940—1948
» erumpens (Tayl.) Wain.	» » » »	1940—1948
» spuria (Ach.) Dc.	» » » »	1940—1948
Physcia pulverulenta (Scheb.) Nyl.	» » » »	1940—1948
Placodium elegans (L.) Ach.	Армения	1947
» lentigerum (Web.) Gray.	»	1947
» murorum (Hoffm.) Dc.	»	1947
» variabile (Pers.) Ach.	»	1947
» chrysoleucum (Sm.) Krb.	»	1947
Psora decipiens (Ehrh.) Hoffm.	Кавказ, Ашхабад и средняя полоса СССР	1947—1948
Ramalina pollinaria Nyl.	То же	1948
Rhizocarpon geographicum (L.) Dc.	»	1948
Squamaria melanophthalma Ram.	Армения	1947
Usnea florida (L.) Mod.	Кавказ, Ашхабад и средняя полоса СССР	1947—1948
» barbata (L.) Hoffm.	То же	1947—1948
» longissima (L.) Ach.	Остров Сахалин	1946

Кроме перечисленных здесь видов, было исследовано более 50 образцов лишайников, систематическое положение которых осталось неопределенным.

Таблица 2

Число микроорганизмов в слоевищах лишайников

в миллионах на 1 г сырой массы

Название лишайника	Место сбора	Число клеток
Acarospora chlorophana	Армения	6
» alba	Грузия	12
» dealbata	»	8
Aspicilia esculenta	Окрестности Москвы	25
» calcarea	Армения	12
Candelaria concolor	Окрестности Москвы	8,6
Cetraria islandica	» »	35
Cladonia alpestris	» »	12
» convoluta	» »	5
» cornuta	» »	8
» sylvatica	» »	40
Diploschistes ocellatus	Армения	50
Evernia prunastri	Окрестности Москвы	24
Fulgensia fulgens	Армения	55
Gyrophora cylindrica	»	70
Lecanora frustulosa	»	30
» allophana	Окрестности Москвы	20
Lobaria pulmonaria	» »	8
Nephroma arcticum	» »	18
Parmelia physodes	Армения	5
Placodium elegans	»	10
Psora decipiens	»	8
Ramalina pollinaria	»	3
Rhizocarpon geographicum	»	18
Squamaria melanophthalma	Армения	8
Usnea florida	Окрестности Ленинграда	12
» barbata	» Москвы	10

Таблица

Видовой состав микроорганизмов в лишайниках

в тысячах на 1 г сырой массы

Название лишайника	Общее число бактерий	Спороносные бактерии	Неспоронос-ные бактерии	Микрококки	Микобактерии	Актиномицеты	Олиго-нитрофилы
Acarospora chlorophana	5 200	0,5	3 800	600	800	0,1	0,50
Acarospora alba	16 000	0,05	13 000	1 000	2 000	0,02	0,10
Candelaria concolor	6 500	0	4 800	700	1 000	0,001	6,4
Cladonia alpestris	8 000	0	6 500	500	1 000	0,01	0,2
» sylvatica	25 000	0,1	23 000	600	1 400	5,0	0,001
Cetraria islandica	35 000	0,01	30 000	1 000	4 000	0,01	5,0
Gyrophora vellea	50 000	0,005	35 000	500	14 500	0,001	0,01
Lecanora allophana	25 000	0,01	24 000	700	300	0,3	0,2
Placodium elegans	6 500	0	5 000	500	1 000	5,7	2,0
Psora decipiens	8 000	0,001	5 500	700	1 800	2,5	1,5
Rhizocarpon geographicum	1 000	0	7 000	300	2 700	0,5	3,5
Squamaria melanophthora	6 800	0	5 400	200	1 200	0,6	6,2
Usnea florida	60 000	0,005	55 000	1 000	4 000	0,1	0,01
» barbata	11 500	0	8 500	500	2 500	0,01	0

мельче расщепляется лишайник, тем больше выявляется в нем микробов. Последние освобождаются по мере механического дробления слоевища (табл. 3).

По способности развиваться на питательных средах бактерии лишайников можно разделить на три резко отличные группы.

Одни хорошо развиваются на обычных белковых средах — мясопептонный агар или бульон, мясопептонная желатина, кровяная сыворотка и т. д.; одни расщепляют белки и ассимилируют органический азот; другие могут ассимилировать минеральный азот (нитраты, аммонийные соли), хорошо растут на синтетических средах (среда Чапека и др.). Третьи не растут ни на тех, ни на других. Третья группа микроорганизмов — самая многочисленная в лишайниках. Обнаруживаются организмы этой группы только на голодной или полуголодной агаризованной среде Эшби. Как уже отмечалось, на среде Эшби выявляется бактерий в 50—100 раз больше, чем на МПА или желатине. Однако развитие их здесь крайне слабое; колонии очень мелкие, едва заметные простым глазом, а большинство их приходится рассматривать в сильную лупу. В большинстве случаев колонии не пересеваются ни на одну из лабораторных сред, в том числе и на безазотистую среду Эшби.

Микроскопический анализ показал, что эти бактерии относятся в основной своей массе к роду Bacterium и роду Pseudomonas. В большинстве случаев они представляют очень мелкие, подвижные палочки $1 — 2 \times 0{,}5$ μ, реже более крупные — $2 — 5 \times 0{,}6$ μ. У одних организмов жгутики расположены на конце клеток, у других — по всей периферии. Плазма клеток однородная, светлая, слабо преломляет свет, включений никаких не обнаруживается. По внешнему строению клеток бактерии этой группы не очень разнообразны; мы насчитывали примерно 3—5 типов (может быть, видов) их; повидимому, эти организмы являются наиболее специализированными формами, приспособившимися к существованию в теле лишайников, и, безусловно, представляют наибольший интерес.

Групповой состав микрофлоры первых двух групп, развивающихся на белковых и синтетических средах, также не очень разнообразен. Преобладающее большинство составляют неспороносные бактерии из Pseudomonas и Bacterium; значительно меньше, но часто встречаются микобактерии и микрококки; спороносные бактерии, как правило, обнаруживаются редко или совсем не обнаруживаются в свежих образцах лишайников; азотобактера, как отмечалось выше, совсем нет. Актиномицеты встречаются иногда в большом количестве; грибов очень мало. Заслуживают внимания олигонитрофилы — организмы, хорошо развивающиеся на безазотистых средах. Они обнаруживаются почти во всех образцах лишайников и в некоторых случаях в большом количестве. Колонии их слизистые или полуслизистые, выпуклые прозрачные или полупрозрачные, похожие на колонии азотобактера. Хорошо перевиваются на ту же среду Эшби, не растут или слабо растут на белковых средах. По видовому составу олигонитрофилы различны. Чаще всего они принадлежат к спороносным бактериям, но нередко среди них встречаются микобактерии, бактерии и псевдомонас.

Из отдельных видов бактерий обращают на себя внимание неспороносные палочки типа Bact. herbicola. Этот организм довольно часто обнаруживается в лишайниках, причем в количественном отношении он нередко занимает первое место среди форм рода Bacterium. В большом числе встречаются окрашенные микобактерии: Mycobact. luteum, Mycobact. rubrum, Mycobact. citreum, а также пигментированные микрококки — Micrococcus flavus, Micrococcus citreus, Micrococcus luteus.

В двух образцах лишайников — Cladonia alpestris и Cladonia crispata — обнаружены сине-фиолетовые микобактерии — Micrococcum violaceum.

Как видно, микроорганизмы этих двух групп неспецифичны и, по-видимому, играют иную роль, чем бактерии первой группы, в жизни лишайников.

При высушивании и хранении лишайников в обычных условиях лаборатории (при комнатной температуре) состав микрофлоры резко меняется. Общее число бактерий и микобактерий уменьшается в десятки и сотни раз.

При одних и тех же условиях посева, в одном и том же образце лишайника в свежем состоянии выявлялось на МПА 560 000—1 200 000 клеток, а после 25—30-суточного хранения в сухом состоянии — соответственно только 2 500—1 800 (табл. 4).

В приведенной таблице расчет произведен на 1 г сырой массы лишайника. Последняя перед высушиванием отвешивалась навесками по 1 грамму.

Таблица 4

Изменение состава микрофлоры в лишайниках при хранении. Число клеток на 1 г сырой массы. Подсчет колоний на МПА

Название лишайника	Число клеток до высушивания	Длительность высушивания в сутках	Число клеток после высушивания
Acarospora chlorophana	560 000	25	2 500
Cladonia sylvatica	67 000	10	15 000
« »	67 000	35	1 200
» »	67 000	50	1 300
Placodium elegans	80 000	30	2 500
Usnea florida	1 200 000	30	1 800

Еще более резкое падение общего числа бактерий при высушивании лишайников наступает среди третьей группы микроорганизмов. При высеве сухих лишайников на агар Эшби эти организмы почти отсутствуют, они вырастают единичными колониями. Если в свежих образцах они насчитываются миллионами (5—50 млн. в 1 г), то после 1—2-месячного пребывания в сухом состоянии в лабораторном помещении выявляется всего навсего 5—10 тысяч. Как видно из данных анализов, эта группа микроорганизмов наиболее чувствительна к высушиванию.

Из микроорганизмов первой и второй группы массовая гибель при высушивании лишайников наступает среди Pseudomonas и Bacterium, в меньшей степени погибают олигонитрофилы. Но более устойчивыми к этому агенту являются пигментные формы микроорганизмов — бактерии, микрококки и микобактерии. В табл. 5 приведены результаты анализов только что собранных лишайников и после 1,5-месячного пребывания их в сухом состоянии.

Как видно из таблицы, наиболее устойчивы к высушиванию микобактерии. Эти данные полностью совпадают с нашими наблюдениями над микрофлорой почв засушливых районов. Почвы Средней Азии, Заволжья и особенно полупустынные почвы, как правило, изобилуют пигментными формами микроорганизмов и больше всего микобактериями, псевдобактериями и микококками.

Надо полагать, что пигментные формы бактерий и микобактерий более приспособлены к условиям наименьшей влажности. Это особенно хорошо выражено у представителей Actinomycetales — актиномицетов, микобактерий, псевдобактерий и микококков.

Отмечая факт количественного различия микроорганизмов в лишайниках, мы пытались выяснить причины его. Обусловлено ли оно видо-

Таблица 5

Влияние высушивания на сохранение пигментных форм микроорганизмов в лишайниках. Число клеток в тысячах на 1 г навески в посевах на МПА

Название лишайника	Свежие образцы лишайников				Сухие образцы лишайников			
	общее число микроорганизмов	пигментированные			общее число микроорганизмов	пигментированные		
		бактерии	микрококки	микобактерии		бактерии	микрококки	микобактерии
Acarospora chlorophana . . .	50	10	3	45	75	3	2,1	40
Cladonia convoluta	60	13	8	100	132	6,2	5,2	101
» sylvatica	80	6	15	30	70	4,2	4,7	28,2
Lecanora frustulosa	61	15	6	45	81	8,6	2,0	37,0
Gyrophora cylindrica	120	28	7	83	195	17	6	52,6
Nephroma arcticum	98	45	2	120	210	12,8	3,5	118,9
Placodium elegans	12	30	6	80	142	20,6	2,5	68,5

выми особенностями лишайников или оно вызвано экологическими факторами?

Наши исследования показали, что наиболее существенным фактором в развитии микроорганизмов в слоевище лишайников является состояние последнего. В период максимальной жизнедеятельности лишайника, т. е. когда достаточно влаги и температура не очень высокая, число микроорганизмов в них насчитывается десятками и сотнями миллионов на 1 г веса; в случаях же угасания жизненных процессов, как это бывает при длительной засухе даже у ксерофитов, растущих на каменных породах, наступает резкое падение числа микроорганизмов. В табл. 6

Таблица 6

Количественный состав микрофлоры в лишайниках в период засухи и после дождей. Число клеток в тысячах в 1 г сырой массы лишайника. Подсчет на МПА

Название лишайника	Число клеток	
	в период засухи	в период дождей
Acarospora chlorophana . . .	540	14 800
Aspicilia cenerea	720	48 400
Lecanora dispersa	450	12 700
Parmelia conspersa	520	32 000
Placodium elegans	950	100 000
» ferrugineum	680	80 000
Rhizocarpon geographicum . .	860	110 000
Squamaria muralis	640	62 000

мы приводим цифровые данные микробиологических анализов некоторых видов лишайников, собранных на одной и той же каменной глыбе (базальт) близ Еревана. Мы избегали в данном опыте брать лишайники с разных субстратов с тем, чтобы исключить влияние последних. Одни и те же лишайники указанного местообитания исследовались многократно в засушливый период и в период, когда начали выпадать частые и обильные дожди.

Как видно из таблицы, после дождей число микроорганизмов в теле лишайников значительно увеличивается. Эти данные не случайные. Во

всех случаях, когда собранные образцы лишайников обрабатывались в сухом состоянии, после более или менее длительного хранения число микроорганизмов всегда уменьшается.

В естественных условиях на открытых местах лишайники подвергаются одновременно влиянию различных факторов.

Вместе с засухой обычно происходит сильное нагревание лишайников солнцем. Нагрев может быть весьма значительным, особенно на юге и на южных склонах гор. Естественно, что данный фактор оказывает большое влияние и на количественный состав микроорганизмов.

Значение субстрата в развитии и накоплении микроорганизмов в лишайниках мы подробно не изучали. Однако ориентировочные исследования не дали существенных показателей. Мы не могли отметить различия в количественном составе микроорганизмов в теле одних и тех же видов лишайников, собранных с разных субстратов. Нами было обследовано около десятка разных видов лишайников, три из них более подробно с многократными повторениями, причем пробы брались одновременно в одной и той же каменоломне (карьер близ Ботанического сада, Ереван) с красного туфа, черного туфа и базальта. Результаты этих исследований приведены в табл. 7.

Таблица 7

Количественный состав микроорганизмов в лишайниках, собранных с разных субстратов. Число клеток в тысячах на 1 г сырой массы лишайников. Подсчет на МПА

Название лишайника	Красный туф	Черный туф	Базальт
Acarospora chlorophana . . .	630	740	680
Placodium elegans	900	820	760
Aspicilia cenerea	840	640	760

Как видно из таблицы, цифровые показатели общего числа микроорганизмов у разных лишайников — одного и того же порядка. Небольшие различия можно объяснить за счет погрешности метода.

Подводя итог приведенных наблюдений и исследований, позволительно поставить вопрос: каково взаимоотношение между лишайниками и обитающими в их слоевище микроорганизмами? Являются ли последние случайными посетителями, попавшими тем или иным путем в тело лишайника из окружающей среды, или они представляют собой формы, более или менее приспособленные к условиям жизни, которые имеются в слоевище лишайника?

Надо полагать, что бактерии и микобактерии, развиваясь и размножаясь в столь большом количестве в теле лишайников, определенным образом влияют на их развитие и биохимические процессы. Это влияние может быть различное. В одних случаях микроорганизмы, питаясь органическими выделениями водорослей и грибов, не допускают большой и вредной концентрации их и этим самым предупреждают самоотравление симбионтов.

В других случаях некоторые виды бактерий и микобактерий могут оказывать стимулирующее или, наоборот, угнетающее действие на тот или другой из компонентов лишайникового симбиоза.

Не исключаются и другие функции микроорганизмов, обитающих в лишайниках.

Придавая определенное значение микроорганизмам в биологии лишайников, тем не менее едва ли их следует рассматривать как компонентов симбиоза.

По аналогии с микрофлорой ризосферы высших растений будет правильнее рассматривать эти существа как сожителей, более или менее приспособленных к узко специфическим условиям существования. Это приспособление не носит абсолютного характера. Многие формы микроорганизмов могут обитать и развиваться вне лишайников, на многих питательных средах как искусственных, так и естественных. Повидимому, многие виды этих сожителей участвуют в подготовке субстратов для развития лишайников. Мелкие размеры бактерий позволяют им проникать в такие поры каменистых субстратов, куда не в состоянии проникнуть ни грибы, ни водоросли. Они первые заселяют необитаемую поверхность этих субстратов и вызывают там своей жизнедеятельностью разрушительные процессы, делают такие субстраты обитаемыми для лишайников, водорослей и грибов. Как было предсгавлено в нашей статье [7], бактериальные клетки, разрушители каменных пород, обнаруживаются в большом количестве в разрушенном или нарушенном поверхностном слое базальта, туфа и других пород.

Выводы

1. Были проведены микробиологические анализы у более чем 200 образцов лишайников. При исследовании установлено, что в слоевище лишайников обитает многочисленная микрофлора. Число микроорганизмов в лишайниках насчитывается в среднем в 5—50 млн., а в отдельных случаях 100 млн. и больше в 1 г сырой массы.

2. Качественный состав микроорганизмов в лишайниках различен; обнаруживаются бактерии, микобактерии, актиномицеты и грибы.

Наиболее многочисленными обитателями являются бактерии из рода Pseudomonas и Bacterium, затем микобактерии; меньше микрококков и актиномицетов, очень мало грибов и еще меньше спороносных бактерий. Иногда встречаются дрожжевые клетки.

В большом количестве встречаются пигментные формы микобактерий, микрококков и бактерий. Из последних часто обнаруживаются Bact. herbicola.

В слоевищах лишайников не обнаруживается азотобактер.

3. Количественный состав микрофлоры в лишайниках меняется в зависимости от состояния последних. В период повышенной жизнедеятельности, т. е. при оптимальных условиях роста лишайника (оптимальная влажность, температура и др.), число микроорганизмов максимальное; с затуханием жизненных процессов в лишайниках наступает резкое падение числа микроорганизмов в них.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 22.X.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Генкель П., О лишайниковом симбиозе. Бюлл. Моск. об-ва исп. природы, Отд. биол., 17, 1938.
2. Генкель П., Новые наблюдения по тройной природе лишайникового симбиоза. Бюлл. Моск. об-ва исп. природы. Отд. биол., **51**, (6), 1946.
3. Генкель П. и Южакова Л. Азотфиксирующие бактерии в лишайниках. Изв. Перм. биол. научно-иссл. ин-та, X, вып. 9—10, 1936.
4. Данилов А. Лишайниковый симбиоз. Природа, № 11, 34, 1933.
5. Еленкин А. Лишайники и почва. Почвоведение, № 4, 1901.
6. Еленкин А. Лишайники как объект педагогики и научного исследования. Ленинград, 1922.
7. Красильников Н. Существует ли азотобактер в лишайниках? Микробиология, XVIII, 3, 1949.
8. Фаминцын О. и Баранецкий Я. Die Entwicklungsgeschichte der Gonidien ind Zoosporenbildung der Flechten. Mem. Acad. Sci. d. St. Petersburg. VII Ser., t. XI, 1867.

О СТРОЕНИИ УКСУСНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Л. И. Солнцева

В четвертом выпуске этого журнала за 1947 г. была помещена статья Бирюзовой [2] «Цитологическое исследование в области уксуснокислых бактерий». Эта работа содержит ряд интересных фактов, касающихся строения уксуснокислых бактерий. Однако интерпретация микроскопических картин, содержащаяся в этой работе, вызывала сомнение. Данная статья посвящена экспериментальной проверке вышеуказанных исследований. Предварительно необходимо кратко изложить содержание статьи Бирюзовой.

В начале статьи Бирюзова пишет: «В своих исследованиях я остановилась на группе уксуснокислых бактерий потому, что хотя имеется большое количество работ, посвященных физиологии, морфологии, биохимии и применению в производстве уксуснокислых бактерий, цитологией этой группы, повидимому, не занимались».

Последнее утверждение не совсем точно. В 1930 г. в СССР было опубликовано прекрасное исследование по морфологии уксуснокислых бактерий, принадлежащее Бачинской [1]. В этой работе была детально описана история их развития, установлено существование в клетках зерен метахроматина и отсутствие телец хроматина. О цитологии уксуснокислых бактерий имеются данные и в монографии Petit [5], посвященной строению микроорганизмов. Таким образом, цитология уксуснокислых бактерий уже изучалась.

Бирюзова, применяя методику окраски, предложенную Robinow [6], обнаружила в клетках уксуснокислых бактерий тельца, окрашивающиеся по Гимза. Обычно в клетке содержалось два зерна, каждое из которых располагалось на границе средней и наружной трети клетки. В редких случаях в клетках имелось по одному окрашивающемуся тельцу. Автор считает обнаруженные зерна зернами хроматина и принимает их за ядра. Таким образом, у уксуснокислых бактерий удается окрасить структуры, аналогичные тем включениям, которые были описаны в клетках различных неспороносных бактерий (Robinow [6], Пешков [4]).

Экспериментальная часть

Методика

Исследования были проведены главным образом с Bact. Schüzenbachii; в отдельных случаях дополнительно изучалась морфология Bact. aceti и Bact. suboxydans. Культивировались бактерии на сусло-агаре с 1% этилового спирта. Выращивание производилось при 25°. Морфология бактерий изучалась с помощью нескольких, ставших классическими методов исследований, применение которых должно считаться обязательным в каждой цитологической работе. Работы, проведенные с помощью только одной какой-нибудь новой методики, например, рекомендованной Robinow (как это имело место в работах Пешкова, Гибшман, Бирюзовой), теряют в своей убедительности. В них нет описания микроскопических картин, полученных при окраске препаратов различными способами, поэтому выводы не всегда обоснованы.

При проверке работ Robinow и Пешкова было установлено, что молодые бактериальные клетки, взятые из очень молодых культур, например 45- или 60-минутного возраста, после смерти (т. е. после фиксации препарата) обладают способностью набухать в краске Гимза. В результате посмертного набухания полярные зерна, также увеличиваются в своих размерах и перемещаются к центру клетки. Эти структуры вышеупомянутыми авторами и были приняты без достаточных оснований за ядра. При кратковременном окрашивании клеток тем же методом (Гимза) никаких телец в центре клеток не обнаруживалось и зерна оставались на полюсах. Таким образом, изменение локализации зерен было посмертным, т. е. представляло собой артефакт (Имшенецкий [3]).

Исходя из этих данных, мы при изучении уксуснокислых бактерий приняли следующую схему исследований. Из 18-часовой культуры уксуснокислых бактерий, выросшей на плотной среде в пробирке, приготовлялись препараты и окрашивались в течение 5—10 минут по Гимза. Они служили первым контролем. Затем из этой же 18-часовой культуры приготовлялась взвесь клеток в воде, и 0,1 см^3 этой взвеси наносилась на поверхность сусло-агара со спиртом, находящимся в чашке Петри. Через 2—3 часа из агара вырезался кусочек и к его поверхности прикасались покровным стеклом. Таким путем получали препараты — отпечатки из молодой культуры. Затем часть препаратов окрашивалась сразу краской Гимза (1 часть эозина 1 : 1 000, 2 части азура 1 : 1 000 и 6 частей воды, pH = 7,2) в течение 5—20 минут, дифференцировалась спиртом, высушивалась и заделывалась в канадский бальзам. Эти препараты служили вторым контролем. Параллельно часть препаратов, согласно методике Robinow, помещалась в краску Гимза на 24 часа при комнатной температуре, а затем также дифференцировалась и заделывалась в канадский бальзам. Кратковременное, продолжительностью в 5—10 минут, окрашивание производилось также красками (метиленовая синяя, фуксин).

Данные микроскопии

Как уже указывалось выше, структуры, принятые Robinow, а затем у нас Пешковым за ядра, оказались полярными зернами. Поэтому прежде всего следовало выяснить, имеются ли полярные тельца у уксуснокислых бактерий. Для этого изучались живые клетки уксуснокислых бактерий. В них на полюсах были отчетливо видны блестящие зерна. При быстрой окраске клеток (Гимза или метиленовая синяя) из 18-часовой культуры отчетливо окрашивались крупные, полярные зерна полушаровидной формы. Они плотно прилегали к оболочке и окрашивались гораздо интенсивнее, чем средняя треть клетки. Полярные зерна были обнаружены независимо от состава питательной среды у трех видов уксуснокислых бактерий (Bact. Schüzenbachii, Bact. aceti, Bact. suboxydans). Таким образом, уксуснокислые бактерии имеют полярные зерна (рис. 1).

Рис. 1. Полярные зерна в клетках Bact. Schüzenbachii. Из 24-часовой культуры на сусло-агаре со спиртом. Быстрая окраска препаратов по Гимза

В работе Бирюзовой (стр. 287) имеется следующее утверждение: «Полярных шапочек» — терминальных скоплений протоплазмы, которые встречаются у многих видов бактерий и которые являются предметом спора в смысле ошибочного смешивания их с оформленными нуклео-

идами, у уксуснокислых бактерий не наблюдается». Это утверждение не соответствует действительности — полярные зерна, как указывалось выше, постоянно обнаруживаются у уксуснокислых бактерий.

Установив, что зерна на полюсах имеются, следовало выяснить, способны ли они набухать и перемещаться в среднюю часть клетки, как это было установлено ранее Имшенецким у Bact. coli [3].

Для этого фиксированные клетки Bact. Schüzenbachii из 2—3-часовых культур окрашивались по Гимза сразу, а часть препаратов помещалась в краску Гимза на 24 часа. В препаратах, окрашенных сразу, клетки имеют несколько бо́льшие размеры, чем обычно, так как они набухли, находясь на поверхности агара. Как известно, уксуснокислые бактерии развиваются значительно медленнее, чем большинство других неспороносных бактерий. Поэтому для получения молодых набухших клеток потребовалось не 60 минут, как это обычно бывает, например в опытах с Bact. coli, а 2—3 часа. В этих набухших клетках, после быст-

Рис. 2. Клетки уксуснокислых бактерий, набухшие в краске Гимза. Полярные зерна также набухли и отошли от полюсов. Окраска по Гимза в течение 24 часов.

Рис. 3. Образование „бисквитообразных" клеток Bact. Schüzenbachii в результате более сильного набухания концов клеток. Набухшие полярные зерна переместились в среднюю треть клетки. Длительная окраска по Гимза

рого окрашивания их по Гимза, полярные зерна обнаруживаются попрежнему на полюсах. Эти же зерна видны и в живых неокрашенных клетках и они также располагаются на концах клеток.

При продолжительном пребывании препаратов в краске Гимза набухшие молодые клетки продолжают набухать в растворе краски. Одновременно происходит набухание и полярных зерен. При увеличении объема клеток полярные зерна отходят от полюсов и перемещаются к центру клеток. Если клетки набухают в растворе краски Гимза умеренно, то они хотя и увеличиваются в размерах, но сохраняют свою цилиндрическую форму, а полярные зерна, отходя от полюсов, не смещаются в самый центр клетки. Представление о клетках, содержащих по два зерна, отошедших от полюсов, дает рисунок 2.

Эти микроскопические картины тождественны с рисунками, приведенными в работе Бирюзовой (рис. 1, рис. 3а в ее статье). На этих рисунках изображены клетки, содержащие по два зерна, центральная часть клетки свободна.

В тех случаях, когда клетки уксуснокислых бактерий, находясь в растворе краски, подвергаются еще более сильному набуханию, они начинают изменять свою форму. Их концы набухают сильнее, чем центральные части клетки. Когда это явление выражено очень резко, клетки приобретают бисквитообразную форму (рис. 3). Они окрашиваются очень бледно, особенно мало краски воспринимают расширенные концы клеток. Полярные зерна у таких бисквитообразных клеток перемещаются из раздутых концов в центр клетки и нередко соприкасаются друг с другом (рис. 3). В этом случае два тельца, лежащих рядом, можно

ошибочно принять за одно зерно, делящееся перетяжкой. Таким образом, клетки уксуснокислых бактерий ведут себя в краске Гимза точно так же, как клетки Bact. coli. Содержащиеся в них полярные зерна набухают и перемещаются к центру клетки. Все эти микроскопические картины вызываются набуханием клеток и зерен в краске, носят посмертный характер и, следовательно, не имеют ничего общего с особенностями строения бактериальной клетки. Повидимому, феномен Робинова — Пешкова, т. е. смещение полярных телец в краске Гимза, явление, широко распространенное и наблюдаемое у всех видов, клетки которых имеют зерна на полюсах.

В клетках уксуснокислых бактерий легко могут быть обнаружены зерна метахроматина. При окраске препаратов метиленовой синью они видны в клетках в виде зерен красно-фиолетового цвета различной величины. Нередко метахроматин переходит в состояние геля и подвергается последующему набуханию. Повидимому, этим объясняется, почему зерна метахроматина выпячивают оболочку клетки и имеют такие крупные размеры (рис. 4). Интересно, что образование метахроматина

Рис. 4. Зерна метахроматина в клетках Bact. Schüzenbachii. Окраска метиленовой синью

в клетке связано с определенным возрастом культуры и условиями выращивания бактерий. Функция метахроматина у микробов, вызывающих брожение, до сих пор окончательно не расшифрована. Однако вполне вероятно, что значительное накопление метахроматина в клетках у уксуснокислых бактерий как-то связано с их биохимической деятельностью. Зерна метахроматина в клетках уксуснокислых бактерий ведут себя так же, как метахроматин у других бактерий. Они растворяются в кислотах, горячей воде, набухают в растворе красок, дают явления метахромазии.

Таким образом, уксуснокислые бактерии содержат хроматин, распределенный диффузно по всей клетке. Они совершенно не имеют ни ядер, ни хромозом, и это не отражается на их способности передавать по наследству свои свойства. Наиболее постоянными и легко констатируемыми внутриклеточными структурами у уксуснокислых бактерий являются полярные тельца и зерна метахроматина.

Выводы

1. Клетки уксуснокислых бактерий (Bact. Schüzenbachii, Bact. aceti, Bact. suboxydans) имеют полярные зерна, а также зерна метахроматина.

2. Молодые клетки уксуснокислых бактерий после продолжительного пребывания их в краске Гимза набухают, полярные зерна отходят от полюсов и перемещаются в среднюю треть клетки. Переместившиеся полярные зерна без достаточных оснований были приняты другими исследователями за ядра.

3. Уксуснокислые бактерии, как и другие истинные бактерии (Eubacteriales), не содержат обособленных ядерных структур и хромозом. Независимо от особенностей цитологии вся клетка в целом является носителем наследственности.

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 12.II.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Бачинская А. Наблюдения над историей развития и строением уксусных бактерий. Изв. АН СССР, Отд. мат. и ест. наук, № 8, 1189, 1933.
2. Бирюзова В. Цитологическое исследование в области уксуснокислых бактерий. Микробиология, XVI, 285, 1947.
3. Имшенецкий А. Об артефактах, принятых за ядра у бактерий. Микробиология, XVII, 218, 1948.
4. Пешков М. Цитология и кариология бактерий кишечнотифозной группы. Журн. микроб., эпидем. и иммунобиол., вып. 4—5, 3, 1945.
5. Petit A. Contribution à l'étude cytologique et taxonomique des bactéries. Ann. d. Service Botan. de Tunisie, 4, I, 1927.
6. Robinow C. A study of the nuclear apparatus of bacteria. Proc. Roy. Soc. London. Ser. B., 130, 299, 1942.

О ВЛИЯНИИ pH СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ ДЕКАРБОКСИЛИРУЮЩИХ ЭНЗИМОВ У БАКТЕРИЙ

С. Р. Мардашев, Р. Н. Этингоф и Л. Я. Мармалевская

Наличие энзимов, декарбоксилирующих аминокислоты, установлено у растений, бактерий и животных. В результате декарбоксилирования образуются, как правило, амины. Некоторые из них (гистамин, тирамин) имеют весьма существенное значение для организма животных, так как являются чрезвычайно активными физиологическими веществами. Какое место занимает реакция декарбоксилирования в обмене веществ у растений, пока неизвестно. В отношении же бактерий общепринятой является концепция, впервые выдвинутая Hanke и Koessler и развиваемая Gale [5]. Как считает Gale, накопление декарбоксилаз у микроорганизмов происходит лишь при особых, неблагоприятных условиях их существования. Для образования декарбоксилирующих энзимов необходимо, по Gale, чтобы pH среды роста был сдвинут в кислую от оптимума сторону. При декарбоксилировании аминокислот образуются продукты более щелочные, чем исходные, и благодаря этому имеет место известное подщелачивание среды. Таким образом, декарбоксилирование препятствует сдвигу pH в сторону подкисления, неблагоприятного для развития культуры.

По поводу дальнейшей судьбы конечных продуктов декарбоксилирования и их роли в обмене веществ бактериальной клетки определенных данных не имеется. Несколько особняком стоит вопрос об α-аланине, продукте декарбоксилирования аспарагиновой кислоты Pseudomycobacterium (Мардашев, Семина, Этингоф и Балясная [1]). Кроме декарбоксилаз, у микроорганизмов существуют и дезаминазы аминокислот, т. е. ферменты, отщепляющие NH_2-группу. При дезаминировании аминокислот имеет место подкисление среды. Gale и Epps [6] считают, что накопление дезаминаз происходит обычно в том случае, если pH среды роста сдвинут в щелочную от оптимума сторону [1].

Таким образом, декарбоксилазам и дезаминазам приписывается лишь «нейтрализующий» эффект, и накопление этих энзимов должно всегда происходить при соответствующих неблагоприятных в отношении pH условиях роста культуры.

В предыдущей работе (Мардашев, Этингоф и Балясная [2]) нами было показано, что образование дезаминаз у Bact. cadaveris, E. coli и Pseudomycobacterium (культуры, обладающие способностью декарбоксилировать лизин, аргинин и аспарагиновую кислоту) происходило при кислой реакции среды, т. е. при условиях, способствующих накоплению декарбоксилирующих энзимов. В связи с этим возникает вопрос о необходимости исследовать влияние pH культуральной среды у этих бактерий на активность декарбоксилаз. Это является тем более необходимым, что в качестве экспериментального обоснования своей концепции Gale послужили его работы с некоторыми декарбоксилирующими культурами. Между тем механизм декарбоксилирования у различных бактерий, повидимому, не всегда одинаков и не всегда приводит к образова-

[1] Gale имеет в виду культуры бактерий, способные в кислой среде образовывать декарбоксилирующие энзимы.

нию продуктов, мало активных с точки зрения дальнейших биохимических превращений (1). Так, например, культура Pseudomycobacterium, выделенная в нашей лаборатории (Мардашев [3]), осуществляет декарбоксилирование аспарагиновой кислоты путем отщепления γ-карбоксила, в результате чего образуется α-аланин — весьма активный метаболит. В клетках этих же бактерий содержится α-аланин-дезаминаза и, следовательно, возможны дальнейшие превращения продукта декарбоксилирования. В этом случае трудно предположить, что реакция декарбоксилирования имеет лишь частное значение «аварийного» характера и не включается в общий аминокислотный обмен клетки.

Иными словами, вызывает сомнение точка зрения, что декарбоксилазы образуются всегда только лишь как «нейтрализующие» (по терминологии Gale) энзимы. В связи с этим в первую очередь надлежало пересмотреть вопрос, в какой мере образование декарбоксилирующих энзимов следует за изменением степени кислотности внешней среды, в которой выращиваются бактерии.

В настоящей работе изучалась активность различных декарбоксилирующих энзимов (лизин-, аргинин-, тирозин- и аспартико-декарбоксилаз), в препаратах, выделенных из бактерий (Bact. cadaveris, E. coli, S. faecalis и Pseudomycobacterium), которые культивировались на средах с различными величинами pH.

Как правило, мы готовили четыре образца сред, значение pH которых равно было 5,9 (обычная концентрация водородных ионов в среде, употребляемой нами для получения активных декарбоксилирующих ферментативных препаратов), а также 6,6; 7,2 и 7,8. Перед посевом на накопительную среду все культуры предварительно пересевались (не менее трех раз) на среды с соответствующими значениями pH. В некоторых случаях пересевы культур проводились ежедневно в течение двух месяцев и через определенные интервалы времени производились посевы для накопления бактериальной массы. В качестве накопительной среды мы пользовались жидкими и твердыми средами. Состав, способы приготовления сред, а также методы получения энзиматических препаратов были описаны нами ранее (Мардашев и Этингоф [4]). Активность декарбоксилаз определялась в респирометре Варбурга по количеству выделяющегося CO_2 из чистого раствора соответствующей аминокислоты. Кроме того, мы всегда определяли общий азот энзиматических препаратов (по микроспособу Кьельдаля), и активность последних (Q_{CO_2}) в конечном счете выражалась как количество микролитров Q_{CO_2}, выделяющихся из 0,5 мл *M*/60 раствора аминокислоты за первые 10 минут опыта на 1 мг азота препарата.

Все измерения pH производились при помощи стеклянного электрода. Мутность бактериальных суспензий определялась по абсорбциометру Хильгера.

В таблицах 1, 2 и 3 представлена активность (Q_{CO_2}) лизин-, аспартико-, и тирозин-декарбоксилаз, выделенных из соответствующих бактерий (Bact. cadaveris, Pseudomycobacterium и S. faecalis) при выращивании последних на твердых (табл. 1 и 2) и жидких (табл. 3) средах различного pH. В опытах с твердой средой поддержание культур (Bact. cadaveris и Pseudomycobacterium) на средах с соответствующей концентрацией водородных ионов продолжалось в течение двух месяцев; при опытах с жидкой средой — адаптация проводилась в течение двух дней. Как видно из приведенных в табл. 1 цифр, активность лизин-декарбоксилазы (Bact. cadaveris) не падала при применении для выращивания твердых сред, имеющих различное начальное pH.

Не уменьшалась также активность аспартико-декарбоксилазы при культивировании Pseudomycobacterium на твердых средах с разными pH.

В противоположность этому при применении жидких сред (табл. 3) активность тирозин-декарбоксилазы обнаруживала закономерное умень-

Таблица 1

Активность (Q_{CO_2}) лизин-декарбоксилазы при выращивании Bact. cadaveris на твердых средах различного pH

Начальное pH в среде	Дни поддержания культуры на средах соответствующего pH							
	0	10	15	30	33	43	48	60
	Активность (Q_{CO_2})							
5,9	153	102	115	180	101	109	135	137
6,6	186	188	193	173	197	101	195	166
7,2	152	155	168	138	188	64	178	172
7,8	228	188	190	136	171	129	208	142

Таблица 2

Активность (Q_{CO_2}) аспартико-декарбоксилазы при выращивании Pseudomycobacterium на твердых средах различного pH

Начальное pH в среде	Дни поддержания культуры на средах соответствующего pH								
	0	0	10	15	30	33	43	48	60
	Активность (Q_{CO_2})								
5,9	—	108	95	66	123	51	44	63	181
6,6	101	110	157	137	77	120	64	48	91
7,2	66	96	82	128	110	91	46	148	116
7,8	114	135	127	205	206	104	65	39	155

Таблица 3

Активность (Q_{CO_2}) лизин- и тирозин-декарбоксилаз при выращивании Bact. cadaveris и S. faecalis на жидких средах различного pH

Начальное pH среды	Культура			
	Bact. cadaveris		S. faecalis	
	Серия I	Серия II	Серия I	Серия II
	Активность (Q_{CO_2})			
5,9	150	111	216	114
6,6	78	93	100	105
7,2	96	65	64	66
7,8	128	70	47	45

шение по мере увеличения начального pH среды; несколько уменьшалась также, однако не закономерно, активность лизин-декарбоксилазы.

В качестве существенного возражения против этой серии экспериментов мог бы служить тот факт, что по мере развития микроорганиз-

мов начальное pH среды обычно значительно меняется. В данном случае в процессе кислотного брожения глюкозы, осуществляемого большинством декарбоксилирующих бактерий, происходит весьма существенное подкисление среды. Таким образом, независимо от начального pH среда в конечном счете становится кислой и декарбоксилазы опять-таки можно было бы рассматривать как «нейтрализаторы» кислой реакции.

Настоящее возражение может быть целиком опровергнуто для Pseudomycobacterium, так как эта бактерия не обладает способностью разлагать глюкозу. Поэтому при развитии этой культуры pH внешней среды не сдвигается в кислую сторону. На рис. 1 представлены кривые, характеризующие изменения pH среды при развитии Bact. cadaveris и Pseudomycobacterium на различных средах. На оси абсцисс отложено время роста, на оси ординат — значения pH. Как видно из кривых,

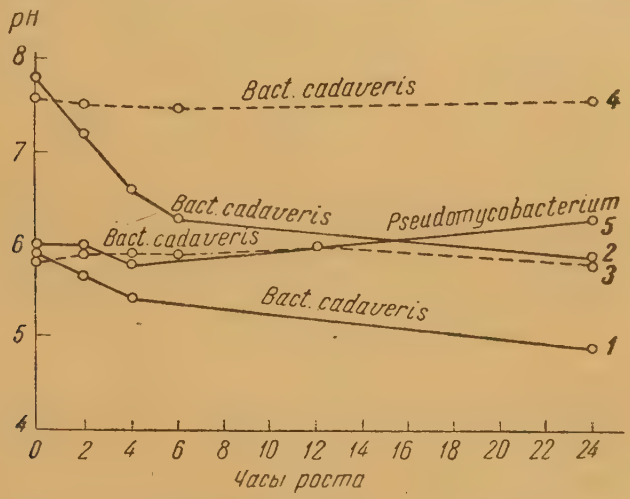


Рис. 1. Изменение pH среды при развитии Bact. cadaveris и Pseudomycobacterium на глюкозной и безглюкозной среде.

1, 2 и 5 показывают ход изменений pH в среде роста при развитии Bact. cadaveris и Pseudomycobacterium на глюкозной среде; *3* и *4* — изменения pH при развитии на безглюкозной среде

представленных на рисунке, Bact. cadaveris сравнительно сильно меняет pH уже в первые часы развития при росте на среде, в которой находится глюкоза (кривые *1* и *2*). Это особенно заметно при выращивании культуры на средах с щелочным pH (кривая *2*). При культивировании Bact. cadaveris на среде, не содержащей глюкозы, колебания pH были весьма незначительны (кривые *3* и *4*). Pseudomycobacterium не изменяла концентрацию водородных ионов в среде и при наличии глюкозы в последней (кривая *5*).

Оптимальными условиями для культивирования Pseudomycobacterium является зона pH = 6,4—7,2. Данные в этом отношении представлены на рис. 2, на котором на оси абсцисс отложены значения pH, на оси ординат — показания гальванометра в абсорбциометре Хильгера, характеризующие интенсивность бактериальной мути.

При выращивании этой культуры в зоне оптимального pH и даже выше (7,8 — см. табл. 2), т. е. тогда, когда сдвиг в щелочную сторону является неблагоприятным для культуры, накапливается активная аспартико-декарбоксилаза. Следовательно, в отношении Pseudomycobacterium можно считать установленным, что изменения pH среды роста не имеют значения для активности декарбоксилирующего энзима.

Что касается Bact. cadaveris, то из экспериментов первой серии следует только, что активность лизин-декарбоксилазы, как правило, почти не

зависит от начальной концентрации водородных ионов в накопительной среде. Поэтому для окончательного выяснения вопроса о влиянии изменений pH на активность декарбоксилазы в этом и подобных ему случаях являлось необходимым создать такие условия развития, при которых pH среды оставалось бы неизменным. Поскольку значительное подкисление среды происходит за счет разложения глюкозы (кривые *1, 2, 3, 4* рис. 1), то в качестве одного из возможных путей решения вопроса о создании среды с постоянным pH является исключение глюкозы из среды роста [2]. Накопление бактериальной массы на безглюкозной среде происходит менее интенсивно, однако декарбоксилазы образуются и активность их весьма высока. В табл. 4 представлены данные по активности лизин-, тирозин- и аргинин-декарбоксилаз при культивировании соответствующих культур (Bact. cadaveris, S. faecalis и E. coli) на среде, в которой не содержалось глюкозы (начальное pH = 5,9). Для сравнения приводятся также средние результаты по активности этих же энзиматических препаратов при выращивании бактерий на обычной, глюкозной среде. Как видно из данных этой таблицы, активность лизин- и тирозин-декарбоксилаз почти не меняется в отсутствие глюкозы; активность же аргинин-декарбоксилазы меньше в случае развития E. coli на безглюкозной среде. Следовательно, как правило, из клеток бактерий, выращенных на безглюкозной среде (начальное pH = 5,9), можно получать активные декарбоксилазы. Исключив же глюкозу из накопительной среды, мы добиваемся более или менее неизменного pH в течение развития. Представляло интерес проверить в этом случае активность декарбоксилаз при культивировании соответствующих культур в зоне pH, остающегося оптимальным на протяжении всего периода развития культуры.

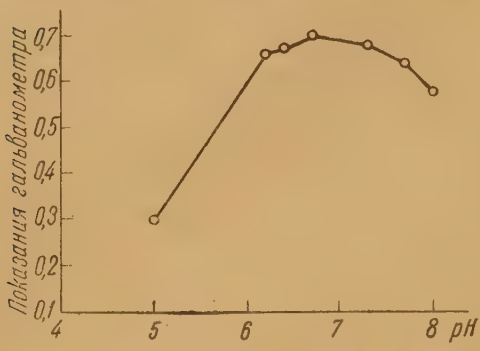


Рис. 2. Оптимум pH для Pseudomycobacterium. Максимальная бактериальная муть соответствует значениям pH = 6,4—7,2

Таблица 4

Активность (Q_{CO_2}) лизин-, аргинин- и тирозин-декарбоксилаз при выращивании Bact. cadaveris, E. coli и S. faecalis на жидких безглюкозных средах при pH = 5,9—6,9

Культура	Активность (Q_{CO})			
	глюкозная среда (средние данные)	безглюкозная среда		
		опыт		
		1	2	среднее
Bact. cadaveris	129	104	141	127
E. coli	100	71	36	54
S. faecalis	141	207	153	180

В предварительной серии опытов мы выяснили оптимум pH для Bact. cadaveris (рис. 3), затем уже перешли к определению активности энзиматических препаратов лизин-декарбоксилазы, полученных из куль-

[2] Применимы различные способы забуферивания среды.

туры Bact. cadaveris, выращивание которой производилось на жидких, безглюкозных средах. Концентрация водородных ионов в среде была оптимальной или близкой к ней. Оптимум pH для Bact. cadaveris равен 7,5—8,0. Измерение pH среды производилось до посева и после роста культуры [3]. Параллельно мы поставили несколько аналогичных опытов и с другими декарбоксилирующими культурами E. coli (аргинин-декарбоксилаза) и S. faecalis (тирозин-декарбоксилаза).

Результаты опытов приведены в табл. 5. Для сравнения приводятся данные по активности энзиматических препаратов, полученных из клеток соответствующих культур, развитие которых происходило на жидкой, безглюкозной среде при pH около 5,9. Из соответствующих граф этой таблицы видно, что все препараты лизин-декарбоксилазы (Bact. cadaveris), независимо от pH среды роста, обладали высокой энзиматической активностью. Препараты тирозин-декарбоксилазы (S. faecalis) также обладали способностью декарбоксилировать тирозин. В противоположность этому в энзиматических препаратах из культур E. coli, выросших при нейтральной или слабощелочной реакции, нам не удавалось обнаружить какую-либо активность.

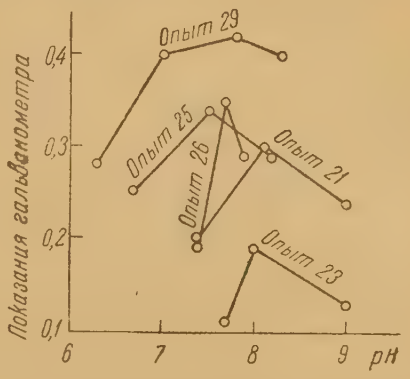


Рис. 3. Оптимум pH для Bact. cadaveris. Отдельные кривые соответствуют различным опытам. Максимальная бактериальная муть соответствует значениям pH=5,7—8

Из результатов, полученных нами, следует, что декарбоксилирующие энзимы, образующиеся у целого ряда весьма разнообразных бактерий, не всегда вырабатываются в зависимости от условий pH культуральной среды. Такой механизм образования декарбоксилаз из обследованных нами бактерий представляется вероятным лишь для E. coli.

Таблица 5

Активность (Q_{CO_2}) лизин-, аргинин- и тирозин-декарбоксилаз при выращивании Bact. cadaveris, E. coli и S. faecalis на жидких, безглюкозных средах при разных значениях pH

Серия опытов	Культура	pH начальное	pH конечное	pH среднее	Q_{CO_2}	Серия опытов	Культура	pH начальное	pH конечное	pH среднее	Q_{CO_2}
1	Bact. cadaveris	5,9	5,7	5,8	104	3	E. coli	6,9	6,4	6,7	0
2	» »	5,9	6,0	6,0	141	4	» »	7,2	6,8	7,0	0
3	» »	6,8	6,5	6,7	131	5	» »	7,2	6,8	7,0	0
4	» »	6,9	6,9	6,9	139	6	» »	7,3	6,9	7,1	0
5	» »	7,1	6,9	7,0	203	7	» »	7,8	7,2	7,5	0
6	» »	7,8	7,2	7,5	154	8	» »	8,1	7,9	8,0	0
7	» »	7,8	7,2	7,5	164	9	» »	8,3	7,7	8,0	0
8	» »	8,1	7,9	8,0	205	10	» »	8,7	8,6	8,7	0
9	» »	8,3	7,7	8,0	185	1	S. faecalis	5,8	5,6	5,7	207
10	» »	8,6	8,6	8,6	197	2	» »	6,2	5,9	6,1	153
1	E. coli	5,8	5 3	5,5	71	3	» »	8,1	7,5	7,8	194
2	» »	6,2	6,2	6,2	36	4	» »	8,6	8,4	8,5	92

[3] В некоторых случаях имело место падение pH, но оно было невелико и не превышало 0,4—0,5.

Другие же бактерии (Bact. cadaveris, Pseudomycobacterium) накапливают декарбоксилазы при различных pH среды и, следовательно, функция декарбоксилаз в данном случае не ограничивается нейтрализующим эффектом. Какие из факторов среды, в которой развивается культура бактерий, играют в данном, конкретном случае решающую роль для накопления этих энзимов и каково значение реакции декарбоксилирования в обмене у этих культур, остается пока неясным.

Выводы

1. Изучалось влияние pH среды на образование энзимов, декарбоксилирующих аминокислоты у Bacterium cadaveris (лизин-декарбоксилазы), Escherichia coli (аргинин-декарбоксилаза), Streptococcus faecalis (тирозин-декарбоксилаза) и Pseudomycobacterium (аспартико-декарбоксилаза).

2. При неизменном в течение роста микробов pH среды декарбоксилирующая активность Bacterium cadaveris и Pseudomycobacterium n. sp. была примерно одного и того же порядка при выращивании как в кислой, так и в щелочной среде.

3. Активность тирозин-декарбоксилазы в препаратах Streptococcus faecalis несколько уменьшалась при культивировании в щелочной среде, но даже при pH = 8,5 она была достаточно большой.

4. При выращивании Escherichia coli декарбоксилирующая активность значительно падала по мере увеличения щелочности среды, и, начиная почти с нейтральной реакции (pH = 6,9) и кончая щелочной зоной (pH = 7,2—8,7), указанная активность была нулевой.

5. Декарбоксилазы Bacterium cadaveris и Pseudomycobacterium n. sp., повидимому, не являются адаптационными энзимами, и механизм их образования для указанных бактерий нельзя объяснить неблагоприятной кислотностью среды.

Кафедра биохимии 1-го Московского медицинского института

Получено 17.XII.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Мардашев С. Р., Семина Л. А., Этингоф Р. Н. и Балясная А. И. Механизм расщепления аспарагиновой кислоты под влиянием бактериальной аспартикодекарбоксилазы. Биохимия, **14**, 44, 1949.
2. Мардашев С. Р., Этингоф Р. Н. и Балясная А. И. Оксидазы аминокислот у некоторых декарбоксилирующих бактерий. Биохимия, **14**, вып. 2, 1949.
3. Мардашев С. Р. Бактериальная декарбоксилаза *L*-аспарагиновой кислоты. Микробиология, XVI, 469, 1947.
4. Мардашев С. Р. и Этингоф Р. Н. Новые данные по получению бактериальных декарбоксилаз аминокислот. Биохимия, **13**, 469, 1948.
5. Gale E., The chemical activities of bacteria. 1947, London.
6. Gale E. a. Epps H. The effect of the pH of the medium during growth on the enzymic activities of Bacteria and the biological significance of the changes produced. Biochem. J., **36**, 600, 1942.

АЦЕТОНО-ЭТИЛОВОЕ БРОЖЕНИЕ. СБРАЖИВАНИЕ ТРЕХУГЛЕРОДНЫХ СОЕДИНЕНИЙ АЦЕТОНО-ЭТИЛОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ

Г. А. Ярмола

Согласно современным представлениям, все виды анаэробного сбраживания шестичленных углеводов связаны с их фосфорилированием и расщеплением на две триозы, судьба которых в отдельных процессах может быть очень различной.

По отношению к ацетоно-этиловому брожению Шапошниковым [3] было высказано предположение о том, что дальнейшие превращения триоз связаны с реакциями сопряженного окисления — восстановления. При этом удается установить двухфазность этого брожения, подобно тому как это было установлено ранее для ацетоно-бутилового брожения. Преимущественное образование из триоз ацетона вместо уксусной кислоты (Козлова [2]), по Шапошникову, должно характеризовать переход из первой фазы брожения во вторую и зависит между прочим от активной кислотности среды [1]. Это находит свое отражение в изменении соотношений между спиртом и ацетоном в течение брожения.

В предыдущем нашем сообщении были приведены результаты опытов на средах с различным качественным и количественным составом углеводного комплекса. Было показано, что при сокращении срока брожения путем уменьшения количества сбраживаемых углеводов удается увеличить относительную величину первой фазы процесса. Это сказывается в резком сдвиге отношения $\frac{\text{спирт}}{\text{ацетон}}$ в сторону спирта.

Дальнейшее изучение ацетоно-этилового брожения привело нас к попытке заменить углеводы телами, стоящими ближе к триозам в том отношении, что они представляют собой также трехчленные углеродные цепи, но отличаются от триоз степенью окисленности как всего соединения в целом, так и отдельных углеродных группировок $CH_2(OH)CHOHCH_2OH$ —глицерин, $CH_3CH(OH)COOH$ —молочная кислота, $CH_3COCOOH$ — пировиноградная кислота.

Все опыты проводились в параллельных сосудах, зараженных определенным количеством культуры (48-часовая культура, выращенная на 30% картофельном заторе с 5% мела) с различной концентрацией сбраживаемых веществ. Глицерин, молочная и пировиноградная кислоты применялись как в отдельности, так и в комбинации друг с другом. Кроме того, в некоторых опытах трехчленные соединения вводились вместе с углеводами. Исходным фоном для опытов служил картофельный экстракт (30% 25-процентного экстракта от объема среды). Брожение проводилось в присутствии мела. Контролем служило брожение на картофельном экстракте с мелом.

В наших опытах глицерин добавлялся в различных количествах: 0,5; 1,0; 2,0 и 5,0% к объему среды.

Рис. 1 и табл. 1 показывают, что глицерин сбраживается целиком в этиловый спирт, что соответствует данным Speakman [5]. Что же касается ацетона, то образование его несколько угнетается по сравнению с контролем (картофельный экстракт без добавок).

Таблица 1

Состав среды	Газовыделение г/л	Разница с экстрактом г/л	Ацетон г/л	Разница с экстрактом г/л	Спирт г/л	Разница с экстрактом г/л	Отношение ацетон / спирт	Количество сброженного глицерина
Картофельный экстракт	1,3	—	0,36	—	0,43	—	1 : 1,2	—
Глюкоза 2,5% . . .	29,7	28,4	2,51	2,15	3,75	3,32	1 : 1,4	—
Глицерин 0,5% . . .	3,9	2,6	0,1	—0,16	1,1	0,58	1 : 11	—
» 1%	7,5	6,2	0,24	—0,62	3,8	3,37	1 : 16	4,5
» 2%	9,3	8,0	0,14	—0,22	6,2	5,77	1 : 20	12,3
» 5%	15,3	14	0,52	0,16	8,43	8	1 : 16	18

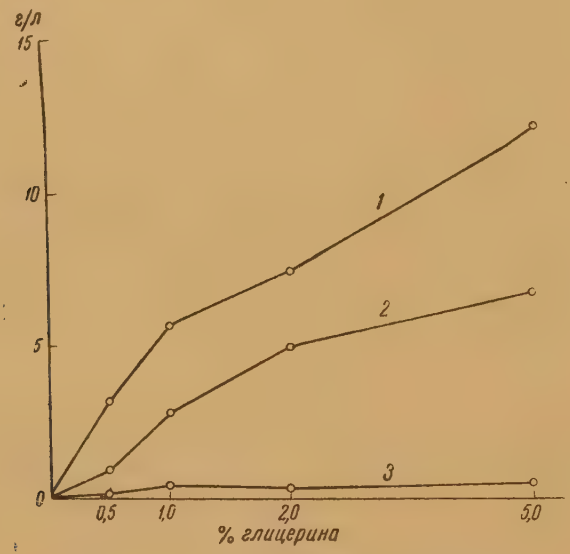


Рис. 1. *1* — газ; *2* — спирт; *3* — ацетон

Количество спирта увеличивается вместе с увеличением концентрации глицерина и превышает таковое при брожении глюкозы. Из 18 г/л сброженного глицерина образовалось 8,43 г/л спирта. В то же время из 25 г/л сброженной глюкозы образовалось 3,75 г/л спирта. Газовыделение в брожении глицерина (15,3 г/л) значительно меньше, чем в брожении глюкозы (29,7 г/л).

Брожение на глицерине идет более вяло и медленно — 10—12 дней, тогда как на глюкозе оно заканчивается через 7 дней.

Интересно также отметить, что при сбраживании глицерина подавляется образование ацетона по сравнению с образованием его на картофельном экстракте без добавления глицерина.

То, что наблюдалось при добавлении глицерина в среду с углеводами, представлено в табл. 2.

Опыт продолжался 14 дней.

Из табл. 2 видно, что если добавить 1% глицерина к картофельному затору, содержащему 1% крахмала, и поставить параллельно колбы с картофелем и глицерином в отдельности в тех же концентрациях, то сумма ацетона и спирта в последних колбах равна их количеству при сбраживании смеси. Брожение несколько подавлено и замедлено.

Опыты с кальциевой солью пировиноградной кислоты показали, что, будучи добавлена к среде в качестве единственного источника углерода,

Таблица 2

Состав среды	Газовыделение г/л	Ацетон г/л	Этиловый спирт г/л	Отношение $\frac{\text{ацетон}}{\text{спирт}}$
Картофельная среда с 1% крахмала	12,4	0,49	1,4	1 : 3,1
Глицерин 1%	7,2	0,2	3,9	1 : 19
В сумме	19,6	0,69	5,3	—
Смесь: глицерин 1% + картофельная среда с 1% крахмала	20,4	0,69	5,2	1 : 7,5

она ацетоно-этиловыми бактериями не сбраживается. В концентрации 0,5% она дает незначительные количества ацетона (0,24 г/л) и спирта (0,2 г/л). Брожение идет очень вяло. В больших концентрациях она не сбраживается совсем.

Пировиноградная кислота действует угнетающе при добавлении ее к углеводам, причем главным образом снижается количество ацетона и газа, меньше снижается выход спирта. Это видно из табл. 3.

Таблица 3

Состав среды	Газовыделение г/л	Ацетон г/л	Этиловый спирт г/л	Отношение $\frac{\text{ацетон}}{\text{спирт}}$
Глюкоза 2,5%	29,0	2,4	3,6	1 : 1,36
Пировиноградная к-та 2,5%	1,5	0,57	0,8	1 : 1,4
Глюкоза 2,5% + пировиноградная к-та 2,5% .	8,58	0,54	3,22	1 : 6

При добавлении пировиноградной кислоты к среде с глицерином несколько повышается количество ацетона и уменьшается количество спирта по сравнению со средой с одним глицерином (табл. 4).

Таблица 4

Состав среды	Газовыделение г/л	Ацетон г/л	Этиловый спирт г/л	Отношение $\frac{\text{ацетон}}{\text{спирт}}$	Количество сброженного глицерина г/л
Глицерин 1%	8,5	0,28	4,1	1 : 14	4,1
Пировиноградная к-та 1% + глицерин 1%	8,58	0,64	2,94	1 : 4,5	5,2

Отношение $\frac{\text{ацетон}}{\text{спирт}}$ при брожении с глицерином равно 1 : 14, при брожении смеси глицерина и пировиноградной кислоты оно равно 1 : 4,5. Брожение сильно угнетается пировиноградной кислотой.

Ввиду этого в дальнейшей работе пировиноградная кислота была заменена молочной, которая после окисления ее спиртовой группы превращается в пировиноградную и поэтому может служить источником

ацетальдегида. Молочная кислота при добавлении ее к картофельному экстракту в количествах от 2,5—5% не сбраживалась совсем. Однако в случае добавления ее к картофельному экстракту вместе с глюкозой или глицерином она не только подвергалась сбраживанию, но и оказывала определенное влияние на соотношение ацетона и спирта.

Таблица 5

Состав среды	Газовыделение г/л	Ацетон г/л	Этиловый спирт г/л	Отношение $\frac{\text{ацетон}}{\text{спирт}}$	Количество сброженного глицерина г/л	Количество сброженной молочной к-ты г/л
Глицерин 2,5%	12,7	0,18	3,73	1 : 20	14	—
Глицерин 2,5% + молочная к-та 2,5%	13,8	0,72	3,57	1 : 4,8	17	2,1
Разница . . .	+1,1	+0,54	—0,16	—	3	—

Из табл. 5 видно, что молочная кислота сбраживается лишь в слабой степени (около 0,2%), но резко изменяет соотношение $\frac{\text{ацетон}}{\text{спирт}}$ в сторону ацетона. При брожении одного глицерина ацетон практически не образуется, в то время как при добавлении к глицерину молочной кислоты его количество (0,72 г/л) становится уже заметным. Количество спирта в обоих случаях почти одинаково.

При уменьшении количества глицерина и молочной кислоты получились результаты, представленные в табл. 6.

Таблица 6

Состав среды	Газовыделение г/л	Ацетон г/л	Этиловый спирт г/л	Отношение $\frac{\text{ацетон}}{\text{спирт}}$	Количество сброженного глицерина г/л	Количество сброженной молочной к-ты г/л
Глицерин 2%	4,2	0,1	4,7	1 : 44	6,2	—
Глицерин 1% + молочная к-та 1%	6,8	0,9	3,1	1 : 3	4,2	1,2
Молочная к-та 2%	Брожения нет					

Из табл. 6 видно, что количество спирта в общем пропорционально количеству сброженного глицерина. Что же касается ацетона, то его образование, очевидно, должно быть отнесено за счет сбраживания молочной кислоты. Некоторое уменьшение спирта во второй колбе объясняется меньшим использованием глицерина. Общее количество спирта и ацетона не ниже, чем в первой колбе. Можно предположить, что при совместном добавлении глицерина и молочной кислоты к среде создаются окислительно-восстановительные условия, необходимые для превращения молочной кислоты в уксусный альдегид.

Если это так, то интересно было изучить сбраживание молочной кислоты в качестве единственного источника углерода в присутствии акцептора водорода, например, метиленовой сини.

Данные табл. 7 показывают, что при добавлении метиленовой сини молочная кислота действительно сбраживается, хотя и в ограниченном количестве. При этом происходит увеличение количества бактерий.

Основным продуктом брожения является при этом ацетон, количество которого в данном случае значительно выше, чем на картофельном экстракте. Количество спирта остается почти таким же, что и в контроле.

Таблица 7

Состав среды	Газовыделение г/л	Ацетон г/л	Этиловый спирт г/л	Отношение ацетон / спирт	Количество сброженной молочной к-ты г/л	Количество бактерий в 1 см³ $1 \cdot 10^7$
Картофельный экстракт . .	1,8	0,09	0,4	1 : 4,5	—	1,1
Молочная к-та 2% + метиленовая синь	2,9	0,35	0,5	1 : 1,3	2,2	2,1
Молочная к-та 2% без метиленовой сини	Брожения нет					

Интересно отметить, что выход ацетона по отношению к сброженной молочной кислоте составляет всего 15—16% в том случае, когда она является единственным сбраживаемым веществом, добавленным к картофельному экстракту.

В случае добавления ее вместе с глицерином выход ацетона достигает 75—88% от количества вовлеченной в брожение молочной кислоты.

Таким образом, сбраживание молочной кислоты происходит только в присутствии глицерина или метиленовой сини. Основным продуктом, образующимся в обоих случаях, является ацетон.

В заключение приношу глубокую благодарность профессору В. Н. Шапошникову за руководство и повседневную помощь в работе.

Выводы

1. Глицерин сбраживается ацетоно-этиловыми бактериями в этиловый спирт; это брожение не сопровождается образованием ацетона.
2. Пировиноградная и молочная кислоты в среде с картофельным экстрактом не сбраживаются. При добавлении их к углеводам они несколько угнетают брожение.
3. При добавлении к среде с лактатом кальция метиленовой сини (в качестве акцептора водорода) наблюдается развитие бактерий и небольшое сбраживание молочной кислоты с образованием в основном ацетона.
4. Добавление молочной кислоты к среде с глицерином способствует переходу брожения во вторую фазу и приводит к образованию ацетона. В силу этого отношение спирта к ацетону значительно приближается к нормальному брожению углеводов.

Кафедра микробиологии
Московского государственного
университета

Получено 6.II.1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Зайцев А. Н. Значение активной кислотности среды для ацетоно-этилового брожения. Микробиология, VIII, 592, 1939.
2. Козлова Е. И. Переработка уксусной кислоты в ацетоно-этиловом брожении в зависимости от наличия сахара в субстрате. Микробиология, IX, вып. 4, 1940.
3. Шапошников В. Н. Химизм ацетоно-этилового брожения в свете новых данных. Микробиология, IX, 344, 1940.
4. Шапошников В. Н. О «дыхании» молочнокислых бактерий. Микробиология, XIV, вып. 3, 1945.
5. Speakman H. The biochemistry of acetone-formation from sugars by Bac. acetoethylicus. J. Biol. Chem., 64, 41, 1925.

ПИТАТЕЛЬНАЯ ЦЕННОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ АЗОТИСТЫХ СОЕДИНЕНИЙ ДЛЯ ДРОЖЖЕЙ

С. А. Коновалов

Изучение вопроса азотистого питания дрожжей не позволяет признать питательную равноценность всех азотистых веществ. Если преимущества органических азотистых соединений по сравнению с аммиачными солями можно объяснить физиологической нейтральностью первых, то при усвоении азота из органических соединений преимущества одного из них перед другим не связаны с изменением реакции среды или отзываются на ней в незначительной степени. Здесь, повидимому, питательная ценность зависит от химической структуры азотистого вещества и от возможности использования его не только как источник азота, но и как источник углерода.

Имеются попытки распределить азотистые соединения на группы по их питательной ценности для дрожжей. Однако правильность классификации, предложенной различными авторами (4,6), окончательно не подтверждена. У ряда исследователей при изучении питательной ценности многих источников азота получились разноречивые выводы. Например, аминокислоту гликоколл одни исследователи относят к группе хороших источников азота, другие считают ее средним или даже плохим азотистым питанием; мочевину Thorne [6] относит к группе плохих источников азота, а Schwartz и Kautzmann [5] считают ее хорошим азотистым материалом и даже лучшим, чем гликоколл и сернокислый аммоний. Очевидно, это следует объяснить применением мочевины в различных концентрациях. За последнее время было установлено, что мочевина легко ассимилируется дрожжами при условии внесения ее в среды в невысоких концентрациях. Многие исследователи при испытании азотистых веществ не применяли их в оптимальных дозировках. Кроме того, противоречивые данные многих авторов объясняются применением ими различных методов учета размножения дрожжей. Одни авторы [4, 5, 3] о размножении дрожжей судили только по приросту дрожжевой массы, учитываемой по ее сухому весу, другие же [6] — только по количеству образуемых клеток. В силу этих причин данные разных авторов получились не сравнимыми между собой.

Задача настоящей работы заключалась в том, чтобы установить питательную ценность различных азотистых соединений при условии: 1) внесения в синтетические среды испытуемых веществ в оптимальных по азоту концентрациях; 2) применения различных методов учета размножения дрожжей.

Экспериментальная часть

Методика работы

Опыты с различными источниками азотистого питания проводились на синтетической среде, составленной по Филипсону. Брожение дрожжами Saccharomyces cerevisiae XII расы велось при 30°. О ходе и интенсивности брожения судили по количеству выделившейся углекислоты. После брожения в бражке определялось содержание общего азота,

значение величины концентрации водородных ионов (потенциометрически) и количество дрожжей. С целью уточнения противоречивых данных, имеющихся в литературе, размножение дрожжей учитывалось подсчетом клеток в камере Тюрка и по приросту их массы. С этой целью дрожжи отделялись из определенного объема бражки центрифугированием, после трехкратного их промывания водой, количественно переносились в тигель и сушились в водяном шкафу до постоянного веса. Прирост доржжей учитывался в абсолютных и относительных единицах. Относительные данные прироста получались в результате деления веса или количества полученных дрожжей на вес или количество начальных.

Питательная ценность различных источников азота сравнивалась с ценностью сернокислого аммония, который применялся в качестве контроля. Среда, приготовленная по Филипсону, содержала в своем составе 0,02% азота. Экспериментально было установлено, что эта концентрация азота является оптимальной, так как изменение ее в бо́льшую или меньшую сторону снижает интенсивность размножения дрожжей и брожения [1, 2].

Результаты опытов

Экспериментально полученные данные показывают, что брожение протекало с равной скоростью в средах с добавлением в отдельности аспарагина, мочевины, аргинина и тирозина. Указанные вещества добавлялись в количествах, соответствующих содержанию азота в среде 0,02%. После 50-часового брожения количество выделившейся углекислоты соответственно составило: 1,72; 1,80; 1,65; 1,80 г из 50 мл. Брожение по своей скорости сильно отставало в средах с гликоколлом и особенно с мочевой кислотой. За указанный период времени в первом случае выделилось 1,00 г CO_2, во втором — 0,65 г. Промежуточное положение занимают среды с сернокислым аммонием; в двух параллельных опытах выделилось равное количество углекислоты: 1,30—1,31 г (рис. 1). Отставание скорости брожения в опытах с сернокислым аммонием всецело объясняется сильным смещением pH среды в кислую сторону (pH = 3,0). Восстановление pH до первоначальной величины (около 6,0) исправляло брожение, и через последующие 20 часов оно по скорости слабо отличалось от брожения на средах с лучшими источниками азота: мочевиной, аспарагином, аргинином и тирозином. Брожение в средах с мочевой кислотой продолжало попрежнему отставать и за оставшийся период времени; отставание наблюдалось и в средах с гликоколлом и сернокислым аммонием без подщелачивания.

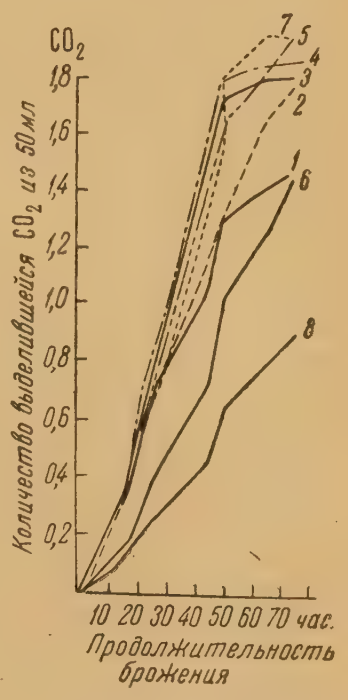


Рис. 1. Динамика сбраживания 10% сахарного раствора с добавлением различных источников азота.

1 — сернокислый аммоний; *2* — сернокислый аммоний со смещением pH; *3* — аспарагин; *4* — тирозин; *5* — аргинин; *6* — гликоколл; *7* — мочевина; *8* — мочевая кислота

Размножение дрожжей в средах с различными источниками азота было неодинаковым (табл. 1).

Интересно, что при различном методе учета дрожжей получается совершенно различное представление о питательной ценности испытуемых азотистых веществ. Так, на основании данных, полученных определением прироста сухой дрожжевой массы, азотистые вещества по их

Таблица 1

Размножение дрожжей, учитываемое по их весу и подсчетом клеток

(миллиграммы в 50 мл; миллионы в 1 мл)

Источник азота	Количество дрожжей				Относительный прирост (б : а)	
	до брожения (а)		после брожения (б)			
	по счету	по весу	по счету	по весу	по счету	по весу
Сернокислый аммоний	11,85	34,8	29,50	80,05	2,4	2,3
Сернокислый аммоний *	11,85	34,8	30,25	106,9	2,5	3,1
Аспарагин	11,85	34,8	29,25	123,5	2,4	3,5
Тирозин	11,85	34,8	29,00	118,7	2,4	3,4
Аргинин	11,85	34,8	32,75	108,0	2,8	3,1
Гликоколл	11,85	34·8	20,00**	84,5	1,7	2,4
Мочевина	11,85	34,8	36,50	136,5	3,1	3,9
Мочевая кислота	11,85	34,8	17,50	84,0	1,5	2,4

* После 50 часов брожения pH среды искусственно смещался в щелочную сторону (от 3,0 до 5,9).

** Клетки были мелкими.

питательной ценности можно расположить по убывающему ряду следующим образом: мочевина > аспарагин > тирозин > сернокислый аммоний [1] > гликоколл > мочевая кислота > сернокислый аммоний.

Эти данные приближаются к результатам, полученным Pirschle [4]. Исключение составляет лишь мочевина, которая в опытах Пиршле уступала аспарагину.

Если же о питательной ценности азотистых веществ судить по приросту числа дрожжевых клеток, то последовательность в расположении названных выше азотистых соединений получается другая, именно: мочевина > аргинин > сернокислый аммоний [1] > сернокислый аммоний > аспарагин > тирозин > гликоколл > мочевая кислота.

Таким образом, на основании полученных данных можно думать, что одно и то же азотистое вещество (аргинин, аспарагин, тирозин и др.) по-разному действует на размножение дрожжей и на рост дрожжевых клеток. Испытуемые источники азота в равной степени ассимилируются и действуют на рост дрожжей, но иначе влияют на размножение клеток; разница особенно замечается в средах с аспарагином, тирозином, мочевой кислотой и гликоколлом. Например, если о питательной ценности судить по приросту дрожжевых клеток, получаемому в средах с соответствующими источниками азота, то гликоколл и особенно мочевую кислоту следует считать плохим источником азотистого питания, так как они сильно уступают сернокислому аммонию; если же о ценности судить по приросту дрожжевой массы, то этого нельзя сказать, так как сернокислый аммоний хотя и слабо, но уступал мочевой кислоте и гликоколлу. Аналогичные данные получились с аспарагином и тирозином; эти аминокислоты не отличаются по своему достоинству от сернокислого аммония, если судить по приросту дрожжевых клеток, но они в два раза превосходили последний по приросту дрожжевой массы, учитываемой определением ее сухого веса (рис. 2). Еще более заметное несоответствие обратного порядка получается между приростом клеток и образованием их массы в средах с сернокислым аммонием, аспарагином или с дрожжевой водой (табл. 2). По степени размножения клеток дрожжевая вода значительно превосходит не только сернокислый аммоний, но и аспарагин; однако по приросту дрожжевой массы она уступает вышеуказанным соединениям (рис. 3). Следовательно, данные по

[1] pH среды после 50 часов брожения был искусственно смещен в щелочную сторону.

размножению дрожжей, полученные путем определения прироста их сухой массы и счета клеток, не сравнимы между собой.

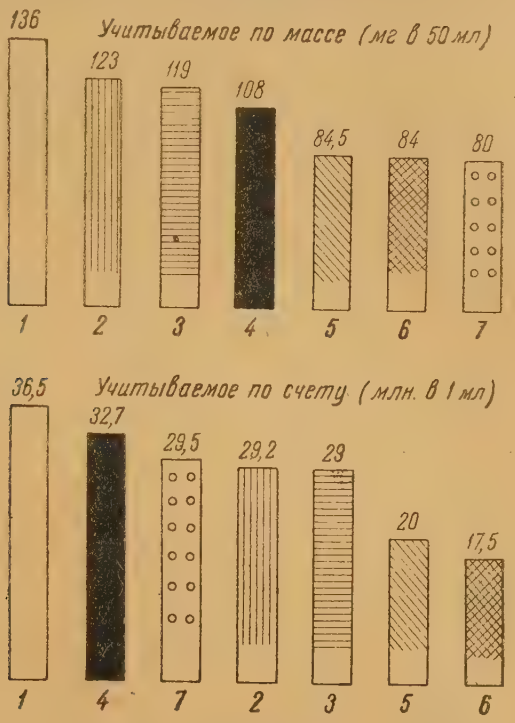


Рис. 2. Влияние аминокислот на размножение дрожжей.

1 — мочевина; *2* — аспарагин; *3* — тирозин; *4* — аргинин; *5* — гликоколл; *6* — мочевая кислота и *7* — сернокислый аммоний

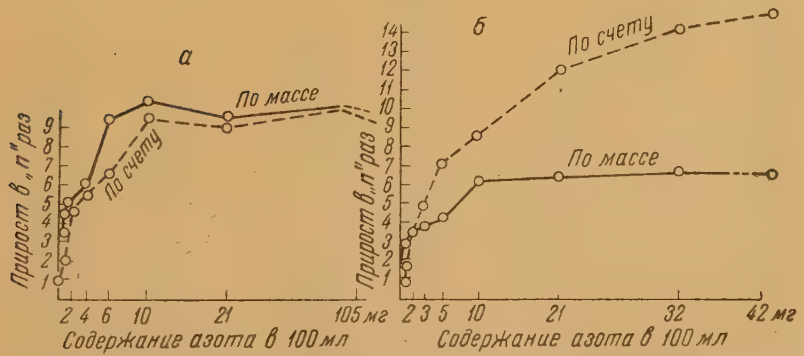


Рис. 3. Относительный прирост, полученный в результате деления веса или подсчетом конечных дрожжей на вес или подсчет начальных дрожжей

Таким образом, на синтетических средах относительный прирост дрожжей, учитываемый по дрожжевой массе, получается почти всегда выше, чем прирост, определяемый число клеток; на потоке или дрожжевой воде результаты получаются обратного порядка, т. е. прирост дрожжевых клеток получается выше прироста их массы (рис. 4). Дрожжевые клетки на синтетических средах имеют более крупные размеры, чем клетки, выращенные на дрожжевой воде; в результате этого и вес их различен. Например, 100 млн. клеток, полученных на синтетических

Таблица 2

Размножение дрожжей, учитываемое по их весу и подсчетом клеток, при сбраживании сред с различными источниками азота

а) Сернокислый аммоний			б) Аспарагин			в) Дрожжевая вода		
Содержание азота в 100 мл (мг)	Количество клеток в 1 мл (млн.)	Вес сухих дрожжей в 100 мл (мг)	Содержание азота в 100 мл (мг)	Количество клеток в 1 мл (млн.)	Вес сухих дрожжей в 100 мл (мг)	Содержание азота в 100 мл (мг)	Количество клеток в 1 мл (млн.)	Вес сухих дрожжей в 100 мл (мг)
212	34	136	167	36	101	42	65	84
106	36	140	81	38	110	32	59	86
21	32	150	16	38	147	21	49	84
10	34	145	9	31	122	10	35	82
6	23	136	5	29	103	5	29	56
4	19	84	3	19	88	3	22	52
2	15	70	1,3	17	63	2	13	42
1	7	64	0,7	10	45	1	7	42
0	4	46	0	5	28	0	4	26

Примечание. Посевные дрожжи: а) опыты с сернокислым аммонием 3,59 млн, или 13,9 мг; б) опыт с аспарагином 5,0 млн., или 13,0 мг; в) опыты с дрожжевой водой 4,18 млн., или 13,5 мг.

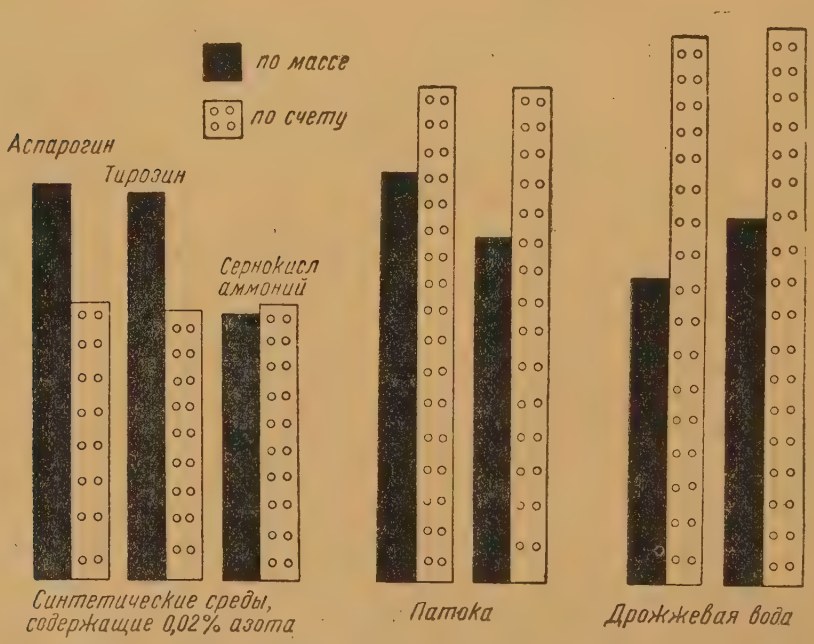


Рис. 4. Относительный прирост дрожжей, учитываемый по их массе и количеству клеток

средах, весят 2,26—3,50 мг, а такое же число клеток, но выращенных на дрожжевой воде, весит 1,30—1,88 мг, т. е. в 1½—2 раза меньше.

В нашем опыте мочевина оказалась наилучшим источником азотистого питания для дрожжей, что не соответствует данным других авторов. Только Schwartz и Kautzmann [5] относили мочевину к группе хороших источников азотистого питания, однако и в их опытах она все же по достоинству уступала аспарагину. В наших опытах аспарагин занял

первое место лишь по количеству ассимилируемого азота (табл. 3). Благоприятное действие мочевины на дрожжи, очевидно, следует объяснить применением ее азота в оптимальных концентрациях.

Таблица 3

Потребление азота дрожжами из сред, содержащих различные источники азотистого питания

Источник азота	Содержание азота в среде (мг в 50 мл)		Усвоено азота		Содержание азота в дрожжах	
	до брожения	после брожения	мг	%	мг	%
Сернокислый аммоний . .	10,60	7,24	3,36	31,70	5,76	7,53
Сернокислый аммоний * . .	10,60	4,40	6,20	58,49	8,60	8,04
Аспарагин	9,33	2,77	6,56	70,63	8,94	7,24
Тирозин	12,00	6,60	5,40	45,00	7,80	7,18
Аргинин	10,20	4,67	5,53	54,21	7,93	7,34
Гликоколл	9,90	7,05	2,85	28,78	5,25	6,21
Мочевина	10,10	3,83	6,27	62,08	8,67	6,36
Мочевая кислота	10,5	7,80	2,70	25,71	—	—

* pH среды искусственно смещался в щелочную сторону (до 5,9).

Выводы

1. Азотистые соединения, применяемые в качестве единственного источника азотистого питания, по-разному влияют на различные функции дрожжевой клетки. В связи с этим данные о питательной ценности азотистых веществ, полученные различными способами, а именно по учету размножения клеток, приросту дрожжевой массы, ассимиляции азота или брожению, приводят к несравнимым между собой выводам.

2. Противоречивые данные многих авторов о питательной ценности различных аминокислот объясняются применением ими различных, не сравнимых между собой способов учета размножения дрожжей.

3. В искусственных средах процесс роста дрожжевых клеток протекает быстрее, чем их размножение; в среде с дрожжевой водой соотношение сдвигается в обратную сторону. В результате этого 100 млн. клеток, полученных в среде с сернокислым аммонием или аспарагином, весят в среднем 2,83 мг, а вес такого же числа клеток, выращенных на дрожжевой воде, составляет 1,59 мг, т. е. в $1^1/_2$—2 раза меньше.

4. Мочевина, применяемая нами в оптимальной по азоту дозировке, равной 0,02%, оказалась, в отличие от литературных данных (6), хорошим источником азотистого питания, не уступающим аспарагину и ряду аминокислот: аргинину, тирозину. При оценке питательного достоинства мочевины принимались во внимание функция размножения, рост дрожжей и их способность к ассимиляции азота.

5. Из испытанных азотистых соединений последнее место по питательной ценности занимают гликоколл и мочевая кислота. Это, вероятно, объясняется их химической структурой.

Получено 6.XII.1948

Всесоюзный научно-исследовательский
институт спиртовой промышленности
Москва

ЛИТЕРАТУРА

1. Захаров И. П., Коновалов С. А. и Кинзбурская Ф. М. Вопросы азотистого питания дрожжей. Микробиология, VII, вып. 5, 643, 1938.
2. Коновалов С. А. Азотистое питание дрожжей. Диссертация, МГУ, 1947.
3. Hartelius V. Vergleichende Untersuchungen über den Wert der Aminosäure als Stickstoffquelle für Hefe. Biochem. Z., 299, 317, 1938.
4. Pirschle K. Biologische Beobachtungen über Hefewachstum mit besonderer Berücksichtigung von Nitraten als Stickstoffquelle. Biochem. Z., 218, 412, 1930.
5. Schwartz W. und Kautzmann R. Beiträge zur Kenntnis der Ernährungsphysiologie einer obergärigen Kulturhefe. Archiv. Mikrob., 2, 537, 1931.
6. Thorne R. S. W. Der Stickstoff-Stoffwechsel der Hefe. Wochenschr. f. Brauer., Nr. 1, 3, 1934.

ВОЗБУДИТЕЛИ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПЯТНИСТОСТЕЙ ТОМАТОВ И МАКА

М. В. Горленко и *И. В. Воронкевич*

В 1947 г. одним из нас был сделан обзор географического распространения бактериальных болезней растений в СССР [4]. Подводя итоги изученного материала, мы писали, что состав этой группы заболеваний в Советском Союзе не является постоянным (стабильным), а будет изменяться в силу деятельности человека, изменяемости состава культур и сортов, а также по мере более полной изучаемости бактериозов растений.

Работа по изучению состава бактериозов растений продолжается, причем в расширении сведений о распространении этой группы болезней в нашей стране нам много помогают различные учреждения, присылающие образцы больных растений для определения причин заболевания. Исследуя эти образцы, мы столкнулись с двумя бактериозами, из которых один вовсе не указывался в пределах СССР, а сведения о наличии другого хотя и имелись, но возбудитель его не был описан. Отсутствие полных сведений об этих бактериозах мы относим за счет вообще недостаточной изученности распространения этой группы заболеваний в нашей стране.

Черная пятнистость томатов

Эта болезнь уже неоднократно отмечалась в различных районах Советского Союза. Яцынина [7] находила ее в Южном Казахстане, Взоров [3] и Серебряков [6] — на Северном Кавказе. В ряде районов СССР она указывается Барской [1]. Бурыхина [2] сообщает о сильном поражении томатов черной пятнистостью в Алтайском крае. Однако ни в одной из указанных работ не дается описание возбудителя, и, следовательно, не представлялось возможным сравнить это заболевание с известными в литературе бактериозами томатов.

За последние годы усилилось развитие болезни. В 1947 г. в Воронежской области в пойме р. Дона мы наблюдали сильнейшее поражение томатов черной пятнистостью, сопровождающееся сильным угнетением растений и недоразвитием плодов. В нашу лабораторию из самых различных зон СССР поступило много образцов растений томатов для определения причин заболеваний. Результаты изучения возбудителей болезней, выделенных из полученных и собранных образцов, излагаются ниже [1].

Черная бактериальная пятнистость появляется как на зеленых частях растений, так и на плодах. На листьях сначала появляются мелкие слабо заметные маслянистые пятнышки, которые по мере подсыхания темнеют. Они представляют собой некротические участки. При сильном поражении пятна сливаются и лист отмирает. Иногда они покрывают листья в виде мелких частых точек. На рис. 1 показаны листья томатов, пораженные бактериальной пятнистостью, полученной в результате искусственного заражения. На рис. 2 изображен пораженный

[1] Кроме томатов, возбудитель черной пятнистости поражает и другие растения из сем. Salanaceae. Взоров [2] отмечает его на перце, а Купревич [5] — на картофеле, однако выделение бактерий (Купревичем) сделано не было.

плод. Здесь также заболевание проявляется в виде темных, выпуклых, мелких пятен, которые появляются еще на зеленом плоде. Заражение, повидимому, начинается при завязывании плодов.

Таким образом, при поражении листьев у заболевших растений уменьшается ассимиляционная поверхность, что приводит к снижению урожая. При поражении плодов ухудшается их товарная ценность.

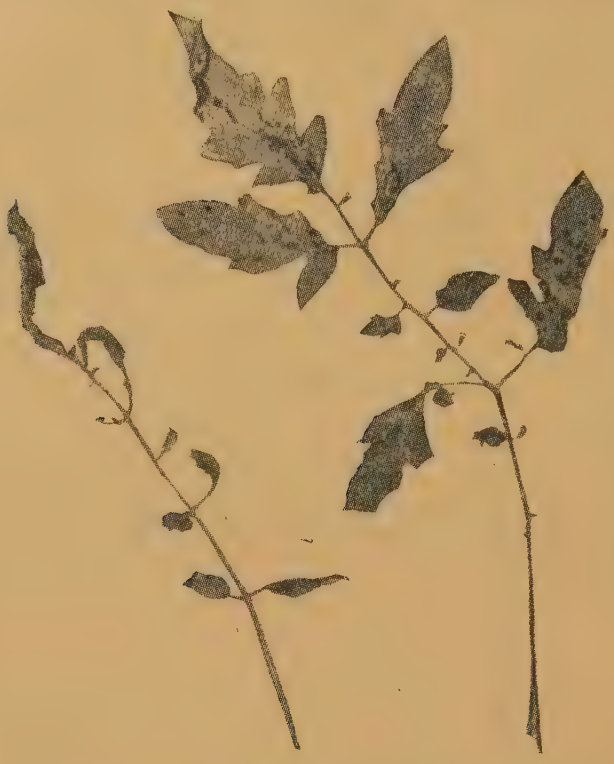


Рис. 1. Листья томатов, пораженные черной пятнистостью (искусственное заражение)

Выделение возбудителя из больных растений производилось обычным методом посевов на картофельный агар. Из 37 выделенных культур 9 проявили себя патогенными в отношении томатов. Их способность вызывать заболевание томатов изучалась на зеленых растениях и на плодах этой культуры. Оказалось, что возбудитель может проникать в ткани через устьица. Это подтверждается тем, что в наших опытах поврежденные и неповрежденные листья заражались в одинаковой степени. Здесь нужно отметить, что чувствительны к инфекции только молодые листья. Заболевания старых листьев искусственным заражением мы вызвать не могли. Этот факт противоречит наблюдениям Яцыниной [7], которая пишет, что болеют только старые листья. Повидимому, это может быть объяснено тем, что она наблюдала заболевание не в начале, когда болезнь мало заметна, а в конце, когда пятна потемнели и резко бросались в глаза. Новые же молодые листья появились уже в условиях, неблагоприятных для развития болезни, и потому не заразились.

Искусственное заражение плодов могло быть вызвано только при условии их повреждения.

Оптимальными условиями для получения искусственного заражения являются наличие капельно-жидкой влаги на листьях, высокая влажность воздуха и температура 25—30°.

Биохимические и культуральные свойства изученных нами культур позволяют идентифицировать эту бактерию с Bact. vesicatorium Doidge, описанной в 1921 г. Doidge [10] в Африке, и с Bact. exitiosum Gardn. et Kendr., которую описали Gardner и Kendrick [11] в США.

Здесь следует отметить, что выделенные нами культуры по своим свойствам не представляли однородной группы, отклоняясь по некоторым признакам. Например, культура № 325 редуцировала нитраты, а культура № 324 не гидролизировала крахмала. Однако все они были патогенны в отношении томатов, вызывая на растениях поражения одного и того же характера.

Свойства изученных нами культур и бактерий, вызывающих пятнистости томатов, описанные ранее, приведены в табл. 1.

Как видно, в основном наши бактерии сходны с известными возбудителями черной пятнистости томатов. Однако они больше приближаются по своим свойствам к культурам, выделенным в США, и несколько отличаются от бактерий, изолированных Дойджем в Африке. Различия эти состоят в том, что африканские культуры свертывали молоко и окрашивались по Граму положительно. В остальном все эти культуры очень близки друг к другу и, вероятно, принадлежат к одному и тому же виду.

Рис. 2. Плод томата, пораженный черной пятнистостью

Это тем более справедливо, что даже в пределах одного образца мы видели культуры, вызывающие вполне типичное заболевание томатов, но отличающиеся друг от друга по некоторым свойствам. Поскольку Дойдж возбудитель черной пятнистости томатов описал впервые, за этой бактерией следует сохранить название Bact. vesicatorium Doidge. Таким образом, мы идентифицировали возбудителя данного заболевания и изучили способы его проникновения в растительные ткани. Дальнейшая работа будет направлена на изучение источников сохранения этой бактерии в природе, с тем чтобы на основании этих данных подойти к разработке мер борьбы с ней.

Пятнистость листьев и коробочек мака

Бактериальная пятнистость мака до этого времени в СССР не отмечалась. В начале 1948 г. в нашу лабораторию фитопатологом Коротковой были доставлены с Казанской селекционной станции образцы листьев и плодов мака, пораженных пятнистостью. Пятна были круглые, темносерые. Некоторые листья были покрыты ими почти сплошь. На рис. 3 показаны два листа мака с разной степенью поражения. Это заболевание наблюдалось Коротковой с 1946 г. (хотя по рассказам оно встречалось и раньше), причем ежегодно имело сильное развитие. Особенно сильно, по сообщению Коротковой (наблюдения 1946—1948 гг.), поражаются ранние сорта. Более поздние (розовый, красный, махровый) поражаются слабее. Вредоносность заболевания значительная, причем уменьшение урожая происходит вследствие недоразвития голо-

Таблица 1

Сравнительная характеристика возбудителей черной пятнистости томатов

Вид бактерий и место выделения	Цвет колоний	Молоко			Разжижение желатины	Сахара					Образование индола	Гидролиз крахмала	Редукция нитратов	Окраска по Граму
		свертывание	пептонизация	изменение лакмуса		глюкоза	галактоза	лактоза	мальтоза	сахароза				
						кислота/газ								
Bact. vesicatorium (Африка)	Желтый	+	+ медленное	Кислотообразование	+	+/—	+/—	+/—		+/—	—	+ слабый	—	+
Bact. exitiosum (США)	»	—	+ медленное	То же	+	—/—	—/—	—/—	—/—	—/—	—	+ слабый	—	—
Культура № 324 (СССР) . . .	»	—	+	Слабое кислотообразование	+	—/—	—/—	+/—	—/—		—	—	—	—
Культура № 325 (СССР) . . .	»	—	+	То же	+ медленное	+/—	+/—	+/—	+/—		—	+ слабый	+	—

Примечание. + наличие; — отсутствие.

Таблица 2

Вид бактерий и место выделения	Цвет колоний и форма	Молоко			Разжижение желатины	Сахара				Образование индола	Гидролиз крахмала	Редукция нитратов	Окраска по Граму
		свертывание	пептонизация	изменение лакмуса		глюкоза	лактоза	мальтоза	сахароза				
						кислота/газ							
Bact. papavericola (США)	Желтый с ровным краем	+ слабое	+	Кислота, затем восстан.	+ медленное	+/—	+/—	+/—	+/—	—		+	—
Bact. papaverum (Болгария)	То же	+			+	+/—	+/—		+/—	—	—		—
Культура № 355 (СССР)	» »	—	+	Кислота	+	+/—	+/—	—/—		—	—	—	—

вок и раннего отмирания растений. Сильно пораженные растения погибают до образования семян. У некоторых сортов были поражены все растения, причем около 6% из них погибло [2].

Из полученных образцов были выделены культуры бактерий, которые представляют собой короткие палочки, образующие на картофельном агаре желтые, слабо выпуклые, круглые с ровным краем колонии.

Патогенность выделенных бактерий была проверена на растениях мака путем опрыскивания их водной суспензией из испытуемой культуры. Растения были помещены под стеклянные колпаки для создания повышенной влажности. Через 5 дней на листьях появились мелкие маслянистые пятнышки, которые увеличивались в размерах. Возрастало также их число. Через 10 дней ими были покрыты все листья. Контрольные растения опрыскивались стерильной водой. Никаких изменений на них не было.

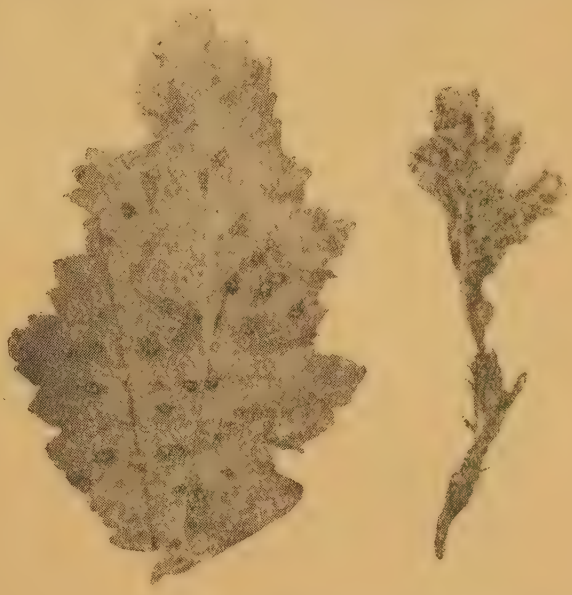


Рис. 3. Листья мака, пораженные бактериальной пятнистостью

Перед заражением растения не повреждались, следовательно, здесь так же, как и в случае черной пятнистости томатов, инфекция проходит через устьица.

Биохимические свойства возбудителя даны в табл. 2. В этой же таблице приводятся свойства ранее описанных бактерий, вызывающих также пятнистость мака.

Bact. papavericola Br. et McWhort. описана в США на Papaver orientale L. и на Papaver Rhoeas L. как возбудитель пятнистости надземных органов. Bryan и McWhorter дают описание болезни, сходное с тем, которое наблюдала Короткова.

Вторая бактерия, описанная Христовым (из книги Atanasoff и другие [8]), вызывала сходное поражение Papaver somniferum в Болгарии. Эта бактерия описана не полно.

Сравнивая свойства этих бактерий со свойствами выделенной нами с Papaver somniferum, можно сказать, что все они сходны между собой.

Наша бактерия отличается от наиболее полно описанной Bact. papavericola только тем, что первая не редуцирует нитратов и не свертывает молока. В остальном их известные свойства совпадают.

Bact. papaverum отличается от указанных двух тем, что не пептонизирует молоко, а свертывает. В остальном известные признаки также совпадают с первыми двумя.

Нам кажется, что эти три организма, описанные в разное время и в различных странах, имеют несомненное сходство, и мы вправе выделенную нами бактерию идентифицировать с Bact. papavericola Br. et Whort. как ранее и наиболее полно описанную.

---

[2] Приносим глубокую благодарность П. И. Коротковой за присылку образцов и некоторые сведения о распространении пятнистости мака на Казанской селекционной станции.

Поскольку нами выявлен инфекционный характер пятнистости надземных органов мака, а высокая ее вредоносность очевидна, необходимо дальнейшее исследование этой болезни.

Выводы

1. Возбудителем черной бактериальной пятнистости томатов является микроорганизм, близкий по своим свойствам к Bact. vesicatorium Doidge. Незначительные отклонения между выделенными нами разными культурами и между описанными в США и Африке возбудителями этой болезни не дают основания выделять их в разные виды, поскольку все они на томатах вызывают один и тот же тип поражения.

2. Пятнистость листьев и коробочек мака, распространенная в СССР, вызывается Bact. papavericola Br. et McWhort. Описанная в Болгарии Bact. papaverum Christoff. вряд ли является самостоятельным видом. Сведения о ней крайне незначительны, а те, что имеются, не отличают ее существенно от Bact. papavericola и выделенных нами культур.

Лаборатория бактериозов
Московского филиала Всесоюзного института
защиты растений

Получено 16.XI.1948

ЛИТЕРАТУРА

1. Барская О. И. Болезни томатов. Консервная и плодоовощная промышленность, № 3, 38, 1937.
2. Бурыхина Е. К. Болезни овощных культур. В кн. «Семеноводство овощебахчевых культур и картофеля». Барнаул, 1945.
3. Взоров В. И. Состав и распространение бактериозов растений в Советском Союзе. Изв. Ростовской станции защ. раст., № 9, 87, 1938.
4. Горленко М. В. Очерк географического распространения бактериальных болезней растений в СССР. Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, отд. биологии, 52, № 2, 61, 1947.
5. Купревич В. Ф. Физиология больного растения. Изд. АН СССР, 1947.
6. Серебряков А. И. Результаты фитопатологического обследования овощных культур в зоне Ростовского консервного треста. Консервное овощеводство, № 4—5, 33, 1939.
7. Яцынина К. Н. Черная пятнистость томатов. Плодоовощное хозяйство, № 8, 65, 1936.
8. Atanasoff D., Dodoff D., Kavacevski S., Martinoff S., Trifonova V. u. Christoff. Нови паразитни гжби за България, III принос 1932.
9. Bryan M. and McWhorter F. P. Bacterial blight of poppy caused by Bact. papavericola sp. nov. J. Agr. Res., 40, 1, 1930.
10. Doidge E. A tomato cancer. Ann. Appl. Biol., 7, 407, 1921.
11. Gardner M. and Kendrick I. Bacterial spot of tomato. J. Agr. Res., 21, 123, 1921.

СТРОЕНИЕ КЛЕТОК ДРОЖЖЕВЫХ ОРГАНИЗМОВ

(Обзор)

М. Н. Мейсель

Дрожжевые организмы продолжают привлекать внимание исследователей и практических работников. Исследователи ценят их прежде всего как превосходный объект для экспериментального решения самых разнообразных общебиологических, физиологических, цитологических, биохимических и генетических вопросов. Богатая, многогранная физиологическая активность дрожжевых организмов позволила уподобить их мешку, наполненному ферментами. Однако это сравнение не может быть признано удачным.

Направленная, упорядоченная деятельность ферментов в дрожжевой клетке теснейшим образом связана с весьма сложной субмикроскопической структурой. Структура дрожжевых клеток значительно более сложна и более дифференцирована, чем структура бактерий, однако она более доступна для изучения именно вследствие высокой степени дифференциации.

Обмен веществ, рост и размножение, приспособительные реакции, наследственность и ее изменчивость — все эти процессы и в их самом общем, обобщенном смысле и в их конкретном преломлении охотно изучаются на примере дрожжевых организмов.

Дрожжевые организмы продолжают сохранять свое важное практическое значение как возбудители брожения с его ценными конечными и промежуточными продуктами, как синтетики полноценного белка, ферментов, витаминов и других биологически активных веществ. Практика заинтересована в углублении и расширении наших знаний о дрожжевых организмах.

Всем этим объясняется тот общий интерес, который постоянно возбуждают вопросы морфологии, физиологии и биохимии дрожжей — этой, казалось бы, довольно узкой и специальной группы микроорганизмов.

Микробная клетка сейчас за рубежом привлекает к себе пристальное внимание формальных генетиков: на микробиологическом материале выискиваются доказательства в пользу хромосомной теории наследственности, менделевского расщепления и генного «управления» конкретными биохимическими процессами. Так как известные факты не укладываются в установленные схемы и каноны, то создаются наспех многочисленные, спекулятивные гипотезы и теории, не помогающие, а вредящие развитию науки.

Для зарубежных исследований, особенно американских, характерен все углубляющийся разрыв между морфологией и физиологией, одно-

стороннее развитие кариологии и все усиливающаяся тенденция распространить на мир микроорганизмов порочные концепции морганов-ской генетики.

Между тем именно микроорганизмы — бактерии, актиномицеты, дрожжевые и мицелиальные грибы — являют блестящий пример того, как весь организм, вся клетка, весь клеточный протопласт, а не только специализированные ядерные структуры участвуют в материальной передаче наследственности последующим поколениям. И при делении, и при почковании, и при образовании спор, конидий и т. п. молодым клеткам последующих поколений передается не только часть ядерного вещества, но обязательно и часть протоплазмы, митохондрий, нуклеопротеидных, липопротеиновых и других структур и клеточных компонентов.

Следовательно, все элементы клетки-организма должны рассматриваться как одинаково важные и значительные.

У микробов организм чаще всего представлен одной клеткой; у дрожжевых организмов клетка весьма высоко дифференцирована и мало отличается в этом отношении от клеток высших растений.

Одноклеточные организмы вынуждены взаимодействовать с внешней средой непосредственно: внутренняя среда их протопласта отделена от изменчивых и изменяющих воздействий внешней среды тонкой плазматической мембраной и оболочкой. Противостоять резко меняющимся условиям внешней среды могут только те организмы, у которых выработалась широкая функциональная и структурная пластичность как норма реакции. Такая широкая пластичность, способность к сравнительно быстрым перестройкам и широкая амплитуда приспособляемости в действительности и образовались в процессе эволюции у микробов. Клетка-организм должна сочетать в себе органный принцип, т. е. специализацию отдельных структур для выполнения отдельных групп функций с принципом универсальности, т. е. осуществления ряда самых общих и основных процессов всеми компонентами клетки. Попытка вскрытия этих принципов осуществляется у нас при разработке функциональной морфологии дрожжевой клетки.

Наш обзор мы начнем с краткого рассмотрения техники исследования.

Новые методы исследования

Почти все новые оптические, цитохимические, микрохимические и микробиохимические методы, разработанные за последние пятнадцать лет, были использованы также и для расширения и углубления наших знаний о тонком строении и составе дрожжевой клетки.

Оптические методы. Ультрафиолетовая абсорбционная микроскопия (см. обзор Мейселя, 1940б), предложенная Касперсоном для локализации в клетке оптическим путем нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов, была применена почти немедленно для исследования ядер, волютина и динамики превращений нуклеопротеидов у дрожжей (Caspersson, 1936; Caspersson u. Brandt, 1941; Brandt, 1941). Более совершенная ультрафиолетовая абсорбционная микроскопия, разработанная у нас Брумбергом (1939, 1942), использующая ахроматические зеркальные отражательные объективы (Брумберг и Гершгорин), была испробована нами для изучения цитологии и цитохимии дрожжевой клетки и оказалась для этих целей вполне перспективной.

Люминесцентная микроскопия (см. обзор Мейселя, 1947б) весьма полезна для прижизненного выявления ядер, хондриосом, метахроматина в дрожжевых клетках (Мейсель и Заварзина, 1947б), а также для установления механизма действия на дрожжевой протопласт химиотерапевтических и антисептических веществ (Мейсель и Заварзина, 1947в; Мейсель и Уманская, 1948). Были предложены рациональные упрощения в технике люминесцентной микроскопии, расширяющие возможность ее применения (Замков, 1948).

Фазово-контрастная микроскопия (см. обзор Генкеля, 1946) оказалась удобной для изучения поведения ядер, хондриосом, оболочек и разнообразных клеточных включений в процессе жизнедеятельности как клеток высших организмов, так и микробов, в том числе и дрожжей.

Электронная микроскопия (см. обзор Мейселя, 1940б; Исаев, Крисс, Рукина, 1945) пока еще не дала осязательных результатов с дрожжевыми организмами; последние оказались, как правило, непрозрачными для электронов. Однако мы рассчитываем с помощью специальных приемов автолиза и лизиса клеток, методов импрегнации и изготовления достаточно тонких срезов получить новые данные и с этим типом микроскопии.

Специальные методы окраски. Широкое применение мало токсичных красок, проникающих в живые клетки, накапливающихся в определенных частях протопласта, содействовало, как известно, выяснению многих основных вопросов строения вакуолярного и хондриосомного аппаратов у дрожжей, установлению закономерностей адсорбции, накопления, перемещения и выделения красителей живой клеткой (Guilliermond, 1940a, b, 1944; Guilliermond et Gautheret, 1937, 1938; Мейсель, 1938а, б, в, г, 1939). Краски, меняющие свои свойства в зависимости от окислительно-восстановительного потенциала, были использованы для суждения об участках особо напряженной окислительно-восстановительной активности в клетках (Joyet-Lavergne, 1934, 1936).

Весьма перспективными для цитологических исследований дрожжей оказались флуорохромы, применяемые в крайне ничтожных концентрациях и вследствие этого не нарушающие нормальной жизнедеятельности клеток (Мейсель и Заварзина, 1947б).

Почти все гистологические и цитологические фиксаторы были испробованы для получения постоянных препаратов дрожжевых клеток. Наилучшими для обнаружения структур ядерного аппарата признаны фиксирующие жидкости Буэна (Guilliermond a. Tanner, 1920), Карнуа (Subramaniam a. Ranganathan, 1945) и Флемминга (Levan, 1947) с последующей окраской по Гейденгайну. Для выявления хондриосомного аппарата хорошие и довольно постоянные результаты дает метод, предложенный нами (Мейсель, 1939). В самое последнее время были рекомендованы новые методы для изучения структуры ядер у грибов (в том числе и дрожжей) с применением ацетокармина (Levan, 1947) и основного фуксина (De Lamater, 1948). Эти методы, однако, требуют проверки.

Цитохимические методы. К этой группе методов в первую очередь следует отнести специфическую реакцию фуксиносернистой кислоты с гидроксилевулиновым альдегидом, предложенную Фельгеном для выявления ядерной или дезоксирибозонуклеиновой кислоты на цитологических препаратах. По свидетельству самого автора этого метода, дрожжи не окрашиваются положительно по Фельгену. По данным Фойта (Voit, 1927), Имшенецкого (1936, 1940) и ряда других исследователей, микроскопически у дрожжей можно получить только весьма слабую фельген-положительную окраску; отчетливо эта реакция обнаруживается макроскопически на мазках или навесках из дрожжевой массы. Интенсивность окраски осажденной дрожжевой суспензии может служить критерием для количественного определения дезоксирибозонуклеиновой кислоты. Отчетливое выявление фельген-положительных участков в дрожжевых ядрах описали Марголена (Margolena, 1932), Рохлина (1933) и другие авторы.

По нашим наблюдениям, дрожжевые клетки на микроскопических препаратах дают очень слабую фельгеновскую реакцию, соответствующую небольшому содержанию ядерной нуклеиновой кислоты (0,15% сухого веса).

Браше (Brachet, 1940) предложил комбинированную окраску метиловой зеленой и пиронином для дифференцировки на микроскопических препаратах ядерных и протоплазматических нуклеопротеидов.

Левадити и Вейе (Levaditi et Veillet, 1944) указали на ценность этой окраски для обнаружения рибозонуклеиновой кислоты у дрожжей; специфичность метода подтверждается тем, что окраска не удается, если препараты предварительно обрабатываются ферментом рибонуклеазой.

Протопласт дрожжей, как известно, положительно красится по Граму; Бартоломью и Умбрейт (Bartolomew a. Umbreit, 1944), а также Генри и Стасей (Henry a. Stacey, 1946) выяснили, что эта окраска как у бактерий, так и у дрожжей зависит от нуклеопротеида, входящего в состав наружных частей протоплазмы и представляющего собой комплекс рибозонуклеиновой кислоты, магния и основного белка. Это соединение может быть удалено, и тогда клетки становятся грамотрицательными. Базофилия клеточного протопласта, как теперь общепризнано, зависит главным образом от содержания кислых коллоидов (Кедровский, 1937, 1940, 1942), основную массу которых составляют нуклеиновые кислоты. Способность этих кислот связываться с основными красками была использована для разработки методов количественного определения нуклеиновых кислот в дрожжевых клетках (Jeener et Brachet, 1942, 1944).

Данные, полученные этими методами, хорошо согласуются с прямыми химическими определениями выделенных из клеток нуклеиновых кислот. Так, например, Делапорт и Рукельман (Delaporte et. Ruckelman, 1933; Delaporte, 1939) произвели последовательное выделение рибозо- и дезоксирибозонуклеиновой кислоты из дрожжей и наблюдали при этом сначала исчезновение на цитологических препаратах волютина, а затем и способности ядер окрашиваться.

Эйлер и Хан (Euler u. Hahn, 1947) исследовали количественное содержание нуклеиновых кислот у разных дрожжей; они считают, что количество рибозонуклеино-

вой кислоты достигает 5—7%, а дезоксирибозонуклеиновой — до 0,3% на сухой вес. Шаргаф и Заменгоф (Chargaff a. Zamenhof, 1948), применив весьма мягкий метод извлечения, изолировали из дрожжей высокополимеризованную дезоксирибозонуклеиновую кислоту; ее количество составляло 0,15% сухого веса.

Следовательно, в настоящее время можно считать установленным, что дрожжи содержат как протоплазматическую (рибозонуклеиновую), так и типичную ядерную (дезоксирибозонуклеиновую) кислоты, соответствующие нуклеопротеиды и энзиматические системы, включая дезоксирибополимеразу (Zamenhof a. Chargaff, 1948).

Были также сделаны попытки выявить распределение в дрожжевых клетках цитохимическими методами фосфатазы и липазы (Bayliss, Glick a. Siem, 1948; Nickerson, Krugelis a. Andresen, 1948). Фосфатазы обнаружены в ядерных участках, а также в цитоплазме. Сообщения о цитохимическом выявлении в дрожжевых клетках каротиноидов, витамина А (Joyet-Lavergne, 1937), глютатиона (Joyet-Lavergne, 1929), а также витамина С (Bourne, 1936) нуждаются в тщательной проверке и подтверждении. Присутствие витамина С в протоплазме дрожжей более чем сомнительно.

Методы изолирования структурных элементов клетки. Недавно были найдены пути для фракционирования компонентов живой клетки соответственно их удельному весу. Сначала такие исследования были проведены с животными тканями (Claude, 1945, 1946). Ткань гомогенизировалась, а затем центрифугировалась в изотонических, физиологически нейтральных жидкостях. В результате применения дифференциального центрифугирования удалось получить из тканей (т. е. из клеток) различные фракции, состоящие из частичек более или менее одинакового размера и веса. Этим путем были выделены так называемые большие гранулы, которые при дальнейших исследованиях оказались хондриосомами, и мелкие гранулы, получившие название микросом. Химический состав и биохимическая активность этих клеточных компонентов были детально изучены. В 1944 г. Шантрен (Chantrenne, 1944) выделил гранулы, аналогичные микросомам, из дрожжей и исследовал их энзиматическую активность.

Оценивая успехи в области изучения морфологического распределения и биохимии нуклеопротеидов, этих важнейших компонентов клетки, следует особенно подчеркнуть выдающуюся роль наших исследователей в постановке и разработке этой проблемы. Кравков (1901) и Иванов (1902) первые достоверно доказали наличие нуклеопротеидов у микробов. Кедровскому (1937—1942) принадлежит заслуга расшифровки клеточной базофилии. Значительным прогрессом в изучении биохимии и возможного функционального значения микробных нуклеопротеидов мы обязаны Белозерскому (1941—1948). Эволюционные представления о нуклеопротеидной структуре микробной клетки развиты Имшенецким (1940).

Рассмотрим критически наиболее существенные результаты изучения протоплазмы, вакуолярного, хондриосомного и ядерного аппаратов дрожжевой клетки.

Протоплазма

При исследовании молодых дрожжевых клеток в светлом или темном поле микроскопа протоплазма, даже при самых больших увеличениях и высоких апертурах оптики, представляется прозрачной, однородной, несколько сильнее преломляющей свет, чем вакуоля. При обработке фиксированных клеток основными красками протопласт диффузно и интенсивно прокрашивается и удерживает краску. Это явление, носящее название базофилии, зависит, как показали исследования Кедровского (1937, 1940, 1942) и Браше (Brachet, 1940), от присутствия в составе протоплазмы рибозонуклеиновой кислоты. Ее локализация в протоплазме дрожжевых клеток подтверждена тем, что после обработки клеток рибонуклеазой базофилия протопласта исчезала. Касперсон и Брандт (Caspersson u. Brandt, 1941) и Брандт (Brandt, 1941) описали в цитоплазме дрожжевых клеток скопления гранул, сильно абсорбирующих ультрафиолетовые лучи с длиной волны около 260 mμ, которые ими были приняты за нуклеопротеиды рибозного типа.

Все эти исследования не дали, однако, представления о связи нуклеопротеидов цитоплазмы с определенными клеточными структурами. Этот вопрос удалось решить путем анализа выделенных из клеток структурных компонентов. Исследователи, работавшие с животными клетками и выделившие из них фракции митохондрий и хондриосом, обнаружили, что эти клеточные органоиды состоят из липонуклеопро-

теидов рибозного типа. Следовательно, хондриосомы являются одним из структурных элементов, построенных в основном из нуклеопротеидов и использующих цитоплазматическую нуклеиновую кислоту. Однако хондриосомы не включают в себя всей рибозонуклеиновой кислоты. Ее, по данным Шаргафа и Заменгофа (1948), в дрожжевых клетках содержится до 6,9%. Специальное изучение изолированных субмикроскопических компонентов цитоплазмы, проведенное сначала на животных клетках (Claude, 1946; Brachet et Jeener, 1944), а затем и на дрожжах (Chantrenne, 1944), привело к заключению, что цитоплазма содержит многочисленные микромолекулярные гранулы или микросомы (обзор литературы см. у Кедровского, 1948), величина которых колеблется между 50 и 200 mμ. В состав микросом входят белки, нуклеиновая кислота, липоиды, инозит. Ряд ферментов более или менее постоянно связан с этими гранулами. Шантрен нашел, что микросомы дрожжей содержат цитохромоксидазу, пероксидазу, a- и b-цитохромы и дегидразу янтарной кислоты. Каталаза, лактикодегидраза и карбоксилаза определялись главным образом в жидкости вне гранул. Дальнейшие исследования, вероятно, внесут существенные коррективы в эти данные, так как применяемая сейчас техника выделения отдельных клеточных компонентов и их очистка, несомненно, сопровождаются как адсорбцией, так и десорбцией гранулами ряда ферментов, искажающими истинные взаимоотношения в живой клетке. Тем не менее эти наблюдения имеют важное принципиальное значение, подтверждая представления, развитые советской школой биохимиков о связи ферментов с клеточными структурами (Опарин, 1934а, б, 1940; Курсанов, 1940а, б).

В протоплазме дрожжевых клеток, в близком соседстве с вакуолью обычно наблюдаются небольшие гранулы, резко преломляющие свет. Они отчетливо видны в светлом и темном поле. С возрастом клеток эти гранулы увеличиваются как в размерах, так и в количестве. Они характерно окрашиваются суданом и принимались и принимаются большинством исследователей за липоидные. Совершенно произвольно, без каких-либо микрохимических анализов эти гранулы были причислены к волютиновым (Badian, 1937; Brandt, 1941; Lindegren, 1945a). Касперсон и Брандт (1941) и Брандт (1941) уверяют, что гранулы этого типа сильно поглощают ультрафиолетовые лучи с длиной волны около 260 mμ и по этому признаку должны быть отнесены к нуклеопротеидам. Они даже исследовали судьбу таких гранул при активном размножении клеток и брожении. Однако, если сравнить микрофотографии этих авторов в обычном белом свете и в ультрафиолетовых лучах и сопоставить их с картинами, известными любому микробиологу-микроскописту, можно убедиться, что грануляции, выявляемые в ультрафиолетовом свете, не имеют ничего общего ни со светопреломляющими липоидными гранулами, ни с тем, что до сих пор мы считали волютином или метахроматином.

Что выявляют своим методом в протоплазме дрожжей Касперсон и Брандт, сказать трудно. Возможно, что это митохондрии или участки скопления микросом. В разделе о ядре мы разберем более чем странные представления Касперсона, Брандта и Линдегрена о том, что эти грануляции якобы представляют собой эквивалент ядрышка.

Обнаружением нуклеиновой кислоты в составе хондриосом и микросом не исчерпывается локализация этого вещества в протоплазме дрожжевой клетки. В настоящее время установлено, что имеются две фракции рибозонуклеиновой кислоты: связанная с клеточными структурами (хондриосомами и микросомами) и свободная. Количественные изменения этих фракций в связи с жизнедеятельностью дрожжей были недавно тщательно изучены (Jeener et Brachet, 1942, 1944). Оказалось, что в то время как содержание связанной рибонуклеиновой кислоты у не растущих дрожжевых клеток более или менее постоянно (что коррели-

рует с постоянным количеством микросом в покоящейся клетке), свободная рибонуклеиновая кислота подвержена значительным количественным колебаниям в зависимости от различных физиологических состояний. Рост культуры сопровождается увеличением соотношения между свободной и связанной с гранулами фракциями нуклеиновой кислоты, при этом количество нуклеиновой кислоты гранул растет параллельно с нарастанием общего азота (т. е. с увеличением белка).

Содержание свободной нуклеиновой кислоты увеличивается значительно быстрее, чем связанной, и не пропорционально увеличению общего азота. На основании этих наблюдений делается заключение, что не вся, а только гранулярная нуклеиновая кислота, т. е. входящая в состав плазматических нуклеопротеидных структур, непосредственно связана с синтезом белков в клетке.

Зарубежные исследователи, изучающие роль нуклеиновых кислот и нуклеопротеидов, непростительно предают забвению тот неоспоримый факт, что первые точные доказательства роли нуклеопротеидов в формативных процессах протоплазмы принадлежат русскому ученому В. Залесскому (1911).

Протоплазма клеток содержит еще один гранулярный компонент, так называемый гранулярный гликоген. Он был обнаружен и выделен из животных клеток в лаборатории известного цитолога Бенсли (Bensley) Лазаровым (Lazarow, 1943). Кроме гликогена, в состав этих гранул входит некоторое количество белка, цементирующего гранулы. Линдегрен (1945b) считает, что и у дрожжей гликоген представлен гранулярной формой. Он наблюдал, что при обработке клеток раствором Люголя гликоген окрашивается сначала гранулярно и лишь в дальнейшем при перекрашивании получается сплошная диффузно окрашенная масса. Следует заметить, что эти соображения Линдегрена не выдерживают критики. Микроскопически наблюдаемая гранулярность не имеет ничего общего с ультрамикроскопически гранулярным гликогеном Лазарова, тем более что, как известно, многие коллоидные растворы (в том числе и гликогена) подвергаются гранулярному осаждению под воздействием тех или иных химических реагентов. Это не исключает наличия у дрожжей гранулярного гликогена, что должно быть, однако, доказано.

Хондриосомы

Если микросомы, ультрамикроскопические липонуклеопротеидные гранулы, еще не причислены окончательно к категории клеточных органоидов, а рассматриваются скорее как структурный компонент протоплазмы, то хондриосомы уже давно признаны структурами органоидного характера. Они могут быть обнаружены в живых клетках дрожжей при обычных условиях микроскопирования, лучше с фазовым контрастом (особенно у бродящих клеток). Весьма отчетливо хондриосомы выявляются прижизненным окрашиванием зеленым янусом и флуорохромами (Мейсель и Заварзина, 1947б). Многие исследователи видели, описывали и изображали на рисунках, несомненно, хондриосомы, но не идентифицировали их с таковыми. И только в 1913 г. появились точные описания хондриосом у дрожжей (Janssens, van de Putte et Helsmortel, 1913; Guilliermond, 1913). Указание на нуклеопротеидный характер этих органоидов мы находим уже у Бессонова (1919). Зарубежные авторы только недавно пришли к такому же заключению на основании химического анализа выделенных из клеток хондриосом (Claude, 1946) и исследования их в живых клетках при помощи ультрафиолетового абсорбционного микроскопа (Ludford, Smiles a. Welch, 1948). Химический анализ хондриосом (животных клеток) показал, что они содержат от

10 до 12% азота, от 0,9 до 1,6% фосфора и 25% липоидов, состоящих на две трети из фосфолипоидов и содержащих до 2% инозита. Довольно высокое содержание серы (0,82—1,16%) относится, по крайней мере частично, за счет сульфгидрильных групп. И действительно, изолированные хондриосомы дают положительную нитропруссидную реакцию на SH-группы (Claude, 1946).

Ряд биологически активных веществ и биохимических процессов оказались связанными с хондриосомами. Так, в хондриосомах были локализованы витамин А и каротиноиды (Joyet-Lavergne, 1936, 1937; Bourne, 1936). С этими органоидами сочленены амилаза и пептидазы (Holter, 1937; Holter u. Doyle, 1938). Изолированные из клеток хондриосомы обнаружили биохимическую активность, свойственную следующим энзимам: цитохромоксидазе, оксидазе янтарной кислоты, глицерофосфатдегидразе, оксидазе *d*-аминокислот, аденилпирофосфатазе, рибонуклеазам и фосфатазам (Claude, 1945, 1946).

Начало исследованиям локализованных в протоплазме живых клеток окислительных и восстановительных процессов положила работа Баха и Шода (1902) по локализации пероксидазной и оксидазной активности.

Многочисленные, но не вполне убедительные опыты с применением легко окисляемых и восстанавливаемых веществ принадлежат Жуае-Лаверню (Joyet-Lavergne, 1934, 1935, 1936). Ряд исследований по окислительно-восстановительным превращениям индикаторной краски зеленого януса в живых дрожжевых клетках выполнен автором этого обзора (Мейсель, 1935, 1938а, б, в). Эта краска элективно адсорбируется хондриосомами и подвергается на них энергичному восстановлению, что сопровождается переходом ее из зеленой в красную форму. За этим следует десорбция восстановленной краски с хондриосом и перемещение ее в протоплазму. Процесс аккумуляции краски, ее восстановление и десорбция осуществляются в клетке периодически и, повидимому, достаточно точно воспроизводят внутриклеточное перемещение и судьбу ряда веществ, являющихся субстратом окислительно-восстановительных превращений (Мейсель, 1938а, 1945). Протоплазме, ее субмикроскопическим структурам и органоидам в высокой степени свойственны адсорбционно-десорбционные процессы с различной степенью избирательности. Эти процессы, особенно хорошо выявляемые при помощи флуорохромов, имеют фундаментальное значение для накопления и распределения как веществ, поступающих в клетку, так и энзимов и коэнзимов. Клеточные структуры в свете известных нам фактов следует рассматривать как участки, способствующие концентрации веществ — субстратов энзиматических превращений. Эти же структуры одновременно являются и носителями энзимов, а в ряде случаев, очевидно, представляют собой огромные комплексы энзимов. В контакте с их поверхностями происходят как процессы расщепления, так и синтеза веществ, часто подобных по своему строению этим структурам. Эти замечательные особенности клеточных структур, биокаталитические свойства веществ, входящих в их состав, способность связываться с простетическими группами ряда ферментов, возможность концентрировать в себе и на себе то биокатализаторы, то субстраты их воздействий и объясняют казавшееся невероятным разнообразие их функций. Сложные субмикроскопические компоненты протоплазмы, обладающие способностью к самовоспроизведению, несут в себе, как и любая частичка живой материи, наследственные свойства клетки и участвуют наряду с ядерными структурами в передаче этих свойств. На примере живых дрожжевых клеток, прижизненно окрашенных, можно отчетливо видеть передачу части хондриосом вместе с протоплазмой и другими ее компонентами дочерним клеткам при почковании. Не может быть даже самой маленькой почки, в которую не проникла хотя бы одна хондриосома. При образовании спор в каждую спору обязательно включается несколько хондриосом (Мей-

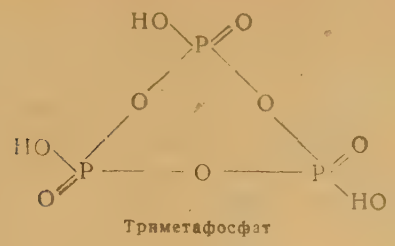
сель, 1938а; Мейсель и Кондратьева, 1945). Излишние хондриосомы остаются вне спор, в эпиплазме, и в дальнейшем дегенерируют. Брандт (Brandt, 1941) смог окрасить только эти излишние хондриосомы в эпиплазме и сделал ложный вывод об отсутствии хондриосом в спорах дрожжей.

Волютин

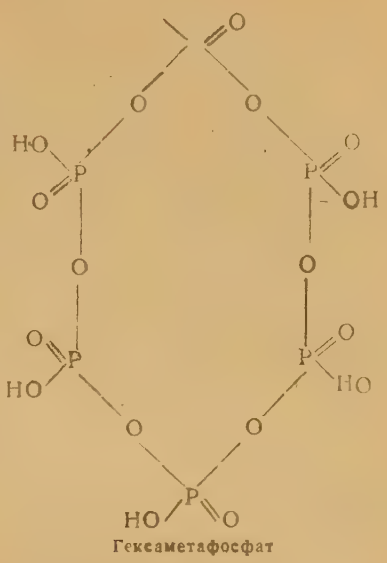
После детальных морфологических и гистохимических исследований Артура Мейера и Гильермона, казалось бы, вопрос о распространении, локализации в клетках и химической характеристике волютина (метахроматина) не вызывал сомнений. В дальнейшем только уточнялась химическая природа и выяснялась возможная физиологическая роль этого вещества. Что касается дрожжей, то все как будто были согласны с тем, что волютин локализуется только в вакуолях, находится в них в виде коллоидного раствора, осаждаемого красками и некоторыми фиксаторами. Кроме ряда характерных химических свойств, волютин отличается способностью давать явление метахромазии. Метахромазия была связана Лизоном (Lison, 1936) с обязательным наличием высокомолекулярных эфиров серной кислоты. Нуклеиновая или нуклеопротеиновая природа волютина подозревались уже давно (van Herwerden, 1917; Алексеев, 1923, 1924 и др.). Деляпорт и Рукельман (Delaporte et Ruckelman, 1938; Delaporte, 1939) выделили из дрожжей при одновременном цитологическом контроле волютин и определили его как рибозонуклеиновую кислоту. Белозерский (1945) установил определенную связь между микроскопически определяемыми гранулами волютина и извлекаемой из клеток нуклеиновой кислотой. Эта кислота содержала пентозы, при гидролизе давала ксантин, гуанин, аденин, цитозин и урацил; она близка к дрожжевой нуклеиновой кислоте и отличается от последней большим содержанием фосфора и присутствием серы, эфирообразно связанной с нуклеиновой кислотой.

За последние 8—10 лет появились сообщения, крайне осложнившие и запутавшие вопрос о волютине. Прежде всего некоторые исследователи стали причислять к волютину новые или иные, чем принято, компоненты клетки (см. обзор Nagel, 1948). Как мы уже указывали, Касперсон и Брандт считают волютином светопреломляющие (липоидные.— *М. М.*) гранулы в протоплазме дрожжей, примыкающие к вакуолям. На микрофотографиях в ультрафиолетовом свете ими выявлены также в протоплазме скопления каких-то гранул (не совпадающих по локализации и количеству с липоидными гранулами), которые энергично поглощают ультрафиолет с длиной волны в 260 mμ. Они также рассматриваются как волютин. Линдегрен (1945a, c, d), восстанавливая старые преодоленные наукой представления Вагера (Wager a. Peniston, 1910), также склоняется к тому, что часть преломляющих свет гранул в протоплазме является волютином. Основная же масса волютина, по его мнению, находится в вакуоле дрожжевой клетки, «окутывая» мифические хромосомы мифического «вакуолярного ядра».

Ряд интересных работ опубликовал Виам (Wiame, 1947, 1948). Сначала им было показано, что дрожжи быстро теряют базофилию при культивировании на бесфосфорной среде и восстанавливают почти тотчас же базофилию при переносе на среду с фосфором. Далее им были обнаружены значительные количества неорганического фосфорного соединения (метафосфата), якобы связанного с нуклеиновой кислотой, и, наконец, в последних публикациях уже сообщается, что метахроматин (волютин) дрожжей целиком состоит из метафосфата. Метафосфорные кислоты составляют сложный класс веществ с общей формулой $(HPO_3)n$. Известны тримерные, гексамерные структуры и полимеры с высоким молекулярным весом.



Триметафосфат



Гексаметафосфат

Эти соединения должны обладать большими энергетическими запасами. Интересно, что гексаметафосфорная кислота оказалась способной осаждать основные краски и вызывать метахромазию синих красок, например толуидиновой синей. В противоположность комплексу нуклеиново-толуидиновому комплекс толуидиновой синей с метафосфорной кислотой является кислотоустойчивым, т. е. удовлетворяет принципу выявления метахроматина, лежащему в основе методики Мейера. Ряд параллельно проведенных цитохимических и химических исследований дрожжевых клеток дает наглядное доказательство большого значения метафосфата в жизнедеятельности дрожжей. Виам считает, что метафосфат является резервным веществом; клетка использует его не только как источник фосфора, но и как энергетический резерв.

Вряд ли, однако, можно согласиться с Виамом, что метафосфат решает проблему волютина. Роль этого соединения, вероятно, велика, но нет еще достаточных оснований для исключения рибозонуклеиновой кислоты в той или иной форме из состава тех несомненно сложных комплексов, которые известны как волютин. Во всяком случае вопросы локализации, состава и физиологической роли волютина за последние годы значительно усложнились и требуют дальнейших исследований.

Вакуолярный аппарат

В настоящее время хорошо известно, что роль вакуолей далеко не исчерпывается процессами осмотической регуляции и поддержанием тургора. Нельзя рассматривать вакуоли только как складочное место для запасных веществ и конечных продуктов обмена. На пограничной пленке, отграничивающей вакуоли от основной массы протоплазмы (тонопласт), и в самих вакуолях происходят оживленные процессы обмена, накапливаются и подвергаются ферментативным превращениям разнообразные вещества. В вакуолярном соке содержатся различные соли в концентрациях, значительно превышающих таковую окружающей среды; в нем можно обнаружить тонкодиспергированные, частично гидратированные липоиды, гликоген, белковые вещества и у дрожжей постоянно метахроматин (волютин). В вакуолях протекают энергичные окислительно-восстановительные процессы. Цитохимически в них обнаружены оксидазы (Loele, 1928, 1929; Dufrenoy, 1945), пероксидаза (Mangenot, 1928); весьма возможно присутствие в вакуолях протеаз (Кедровский 1932). Известно, что некоторые витальные краски, проникающие в вакуоли, энергично в них восстанавливаются. То же, очевид-

но, происходит и с естественными клеточными веществами, имеющими сходную с азокрасками химическую природу (например, флавиновыми пигментами). Окислительно-восстановительный потенциал дрожжей колеблется между rH = 6,5 и 5,2 (Guilliermond et Gautheret, 1939; Guilliermond, 1940b), активная кислотность вакуолей определена при помощи инъекции в дрожжевые клетки индикаторов и оказалась равной pH 5,9—6,9 (Mahdihassan, 1930). Осмотическое давление у дрожжей составляет величину, близкую к давлению 2,5—3,5% растворов NaCl (Селибер и Кацнельсон, 1934; Селибер, 1937). Вакуоли обладают высокой аккумулирующей способностью. Многие основные краски энергично накапливаются в вакуолях (до 3 г на 100 г дрожжей). Эта аккумуляция в значительной степени зависит от наличия метахроматина, способного связывать краску. Существенная роль принадлежит концентрации водородных ионов в среде; основные краски лучше всего проникают и накапливаются в вакуолях при щелочной реакции. При кислой реакции эти краски преимущественно адсорбируются оболочками. Меняя pH окружающей среды, можно наблюдать перемещение краски с клеточной оболочки в вакуоли и обратно. Этот интересный факт сперва обнаружили Эйлер и Флорел (Euler u. Florell, 1919), затем он был детально изучен на клетках высших растений (Strugger, 1936) и на клетках грибов (Guilliermond et Gautheret, 1938, 1939b). Гильермон с сотрудниками установили, что клетки, накопившие в своих вакуолях краски, способны их выделять, экскретировать в окружающую среду; это связано с предварительным полным или частичным восстановлением красок в вакуолях и протоплазме (Guilliermond et Gautheret, 1937). Процесс накопления основной краски (например, нейтральной красной) при наблюдении под микроскопом в белом свете начинается с выпадения в вакуолях одной или нескольких окрашенных гранул; последние сливаются в более крупные шаровидные образования, прилегающие к стенкам вакуолей и принимающие форму полулуний. Крупные шаровидные гранулы увеличиваются до известных пределов, а затем начинают растворяться, заполняя всю вакуоль и интенсивно ее окрашивая. Раскраска вакуолей проходит по таким же этапам, но в обратном порядке. Люминесцентная микроскопия, позволяющая обнаружить гораздо меньшие концентрации красок, показывает, что во всех случаях часть красителя адсорбируется протоплазмой; накопление в вакуолях, как правило, начинается с диффузного пропитывания всей вакуоли и лишь в дальнейшем происходит выпадение гранул.

Если длительно наблюдать за живыми клетками дрожжей, можно обнаружить, что форма и очертания вакуолей очень изменчивы. Гильермон и вслед за ним Рунштрем отметили волнообразное движение вакуолярных оболочек у дрожжей (Brandt, 1941). Наблюдения над одной клеткой показывают, что вакуоля претерпевает разнообразные изменения; из круглой она становится угловатой, распадается на ряд более мелких вакуолек, которые снова сливаются в одну большую. Иногда можно видеть выпячивания плазмы в просвет вакуоли, сжатие и разбухание то всей вакуоли, то отдельных ее участков. В ряде случаев центральная вакуоля может вообще исчезать и вместо нее возникает мелкая вакуолизация протоплазмы. Вакуолярная полость почти полностью ликвидируется при плазмолизе.

При почковании в молодых дочерних клетках вакуоли возникают или заново или путем отпочкования от вакуолей материнской клетки (Cassaigne, 1931). С помощью прижизненного окрашивания нейтральной красной можно уловить начальные этапы развития вакуолярной системы. В почках дрожжей вначале возникают плотные гранулы, интенсивно красящиеся нейтральной красной; гранулы сливаются, оводняются и постепенно превращаются в вакуоли.

Все, что известно в отношении морфологии, химического состава, физиологической роли и истории развития вакуолярного аппарата у грибов и, в частности, у дрожжей, указывает на идентичность этого аппарата с вакуолярной системой клеток высших растений. Пренебрегая всеми известными в науке фактами, Линдегрен (1945а, с; Линдегрен и Линдегрен, 1946) упорно развивает нелепую идею, что вакуоля представляет собою вакуолярное ядро дрожжевой клетки. Мы рассмотрим эти представления в следующем разделе.

Ядро

Сейчас уже никто не сомневается в том, что дрожжевые организмы имеют оформленные ядра. Систематическое положение этих организмов, сложный цикл развития, наличие полового процесса — все это уже предопределяет присутствие сложного ядерного аппарата. Спор продолжается о характере и высоте его организации и о механизме деления. Ядра в дрожжевых клетках наблюдаются в отдельных случаях без какой-либо окраски, но лучше заметны после прижизненной окраски витальными красителями или флуорохромами. После фиксации по Буэну или другими способами дрожжевые ядра могут быть выявлены весьма контрастно. Все эти методы, а также обработка по Фельгену дают вполне совпадающие результаты. Ядро представляется пузырьком, с жидким содержимым (нуклеоплазмой) и крупным тельцем шаровидной или дисковидной формы (кариосомой). Никаких иных структур в интеркинетическом дрожжевом ядре не обнаруживается. Лишь в результате фиксации иногда можно получить зернистые или нитевидные фигуры. При делении ядра распадаются на зернышки или глыбки; их принимают за хромосомы или комплексы слипшихся хромосом (Henrici, 1941).

Тщательное описание интеркинетических ядер у дрожжей было дано Гильермоном (см., например, работу 1910 г.). До недавнего времени оно никем не было поколеблено. Весьма странным поэтому надо считать представления Касперсона и др. (Caspersson, 1941; Caspersson u. Brandt, 1941; Brandt, 1941) о расчлененном примитивном ядре у дрожжей. Ядерное вещество, по их мнению, расчленено; в ядре содержится только эухроматин, образующий хромосомный эквивалент, а гетерохроматин перемещен в протоплазму и представлен там рибозонуклеиновыми гранулами (волютином). Такой расчлененный тип ядра, по мнению Касперсона, присущ также бактериям и является филогенетически более простым. Этот тип ядра он называет «бактериально-дрожжевым», и филогения ядерного аппарата рисуется Касперсону так: растительный вирус (рибозонуклеотид) → дрожжи и бактерии (рибозонуклеотид и дезоксирибозонуклеотид, но не объединенные еще в одном ядре) → клетки высших организмов, в ядре которых объединились оба нуклеотида. Представления Касперсона, его попытка объединения в одну филогенетическую группу бактерий и дрожжей находятся в вопиющем противоречии со всеми известными фактами, касающимися филогении и систематического положения дрожжевых организмов, сложного строения их протопласта и цикла развития.

Ядро у дрожжей (как и в клетках высших растений) нередко прилегает к центральной вакуоле. Это обстоятельство послужило основанием для ошибочных выводов старых исследователей об участии вакуоли в строении ядерного аппарата дрожжей (Wager, 1898; Janssens, 1903; Wager a. Peniston, 1910). Вагер считал, что центральная вакуоля, наполненная гиалиновым содержимым, броунирующими гранулами и иногда сетчатыми структурами, представляет собою не что иное, как вакуолярное ядро. Примыкающее к вакуоле тельце, признаваемое большинством исследователей за ядро,— является будто бы ядрышком.

Эти фантастические взгляды, возникшие в результате низкого уровня микроскопической техники и недостаточно критического отношения к плохим препаратам, были в свое время без труда опровергнуты Гильермоном. Тем не менее взгляды Вагера недавно были приняты и развиты американским генетиком Линдегреном (1945a, c, d, 1946, 1947). Он считает, что современные генетические представления требуют возврата к взглядам Вагера. Применив примитивные методы суправитальной окраски дрожжей метиленовой, анилиновой и толуидиновой синими и обнаружив появление под влиянием этих красок различных осадков в вакуолях, Линдегрен, не колеблясь, объявил, что такие осадки являются истинными хромосомами, а вся вакуоля представляет собой ядро.

По мнению Линдегрена, «хромосомы» делятся, только будучи окутанными метахроматином (последний он считает метафосфатом). Эти единственные в своем роде хромосомы не дают положительной реакции Фельгена [не спасает положения ссылка Линдегрена на мало убедительную статью Рафалко (Rafalko, 1946), якобы получившего слабую окраску по Фельгену нитчатых структур в вакуолях]. Особенно любопытно признание Линдегрена, что его «хромосомы» разрушаются формол-уксусными фиксаторами, которые, как известно, специально применяются для выявления хромосом. Чтобы навести полный «порядок» в структуре дрожжевой клетки, этот автор причисляет липоидные плазматические гранулы к липоидно-нуклеопротеидным компонентам и рассматривает их как образования, соответствующие ядрышку (!?!). Нормальное ядро дрожжевой клетки принимается за структуру, аналогичную гетерохроматину, и за центриолю. Чрезвычайно странно звучит мотивировка: это тельце не может быть ядром, так как оно состоит из двух частей, в то время как «генетическая очевидность» требует наличия у дрожжей по меньшей мере четырех хромосом. Чтобы особенно осторожно зафиксировать дрожжевые клетки и избежать артефактов, Линдегрен не находит лучшего фиксатора, чем слабый раствор нейтральной красной. Броунирующие и перемещающиеся в вакуолях преципитаты, принятые за хромосомы, тщательно подсчитываются и наблюдаются; их перемещения объясняются особой вибрацией, облегчающей обмен между ядром и цитоплазмой. Число таких «хромосом» признается равным двенадцати. Микрофотографии, приложенные к одной из статей Линдегрена (1946), дают очевидные доказательства того, что он опирается на грубые артефакты. Приходится с удивлением констатировать, что эти взгляды нашли некоторое, правда небольшое, число последователей на родине Линдегрена и в других странах. Только немногие ученые подвергли их критике (Ranganathan a. Subramaniam, 1947; Winge a. Roberts, 1948).

Исследователь, знакомый с развитием вакуолярного аппарата у дрожжей, его строением и изменениями в процессах жизнедеятельности, никогда не сможет сколько-нибудь серьезно отнестись к положениям Линдегрена и его последователей. Достаточно понаблюдать под микроскопом за поведением вакуоли в живой дрожжевой клетке и просмотреть несколько хорошо окрашенных при жизни и после фиксации препаратов, чтобы отвергнуть фактический материал и «теоретические» взгляды Линдегрена.

В свое время, критикуя аналогичные высказывания Вагера, шедшие вразрез с бесспорными фактами, полученными Гильермоном, этот последний писал: «трудно понять, как можно еще дискуссировать вопрос столь ясный и ныне всеми признанный» (1910). Нам остается только напомнить об этом Линдегрену. К Линдегрену примыкает Nagel (1946), хотя и делающая ряд оговорок, но по существу подвергающая ревизии учение о строении дрожжевой клетки с тех же теоретически и практически ложных позиций. Считая, что якобы трудно решить вопрос о строении ядра у дрожжей, она предлагает новую сложную номенкла-

туру для компонентов дрожжевой клетки, тщательно избегая при этом общепринятой терминологии. Так, центральная вакуоля ею названа «magnicorp», гранула метахроматина в вакуоле — «central granule», ядро — «parvicorp», а кариосома получила наименование «companian body». Замысловатая терминология только запутывает дело и не открывает новых путей.

Эти работы приведены нами лишь для иллюстрации уровня некоторых зарубежных исследований, авторы которых пренебрегают историей изучения предмета и развитием техники исследования как в своей области, так и в сопредельных областях науки.

Все еще остается открытым вопрос о типе митотического деления и о числе и форме хромосом у дрожжей. Митотическое деление ядра признается подавляющим большинством исследователей. Единственным, пожалуй, исключением за последние годы является работа Бимса, Целла и Сулкина (Beams, Zell u. Sulkin, 1940), снова воскрешающая представления об амитозе у дрожжей.

Митоз рисуется различными авторами по-разному (его чаще всего именно рисуют без документальных микрофотографий). Одни считают, что ядро дрожжей состоит из двух весьма крупных хромосом, делящихся продольно (Badian, 1937; Subramaniam u. Ranganathan, 1945, 1946a; Subramaniam, 1947), другие видели четыре хромосомы (Subramaniam, 1945) или восемь (McKater, 1927). Леван (Levan, 1946, 1947) считает, что у дрожжей не менее десяти хромосом, они разной величины и формы; некоторые из них будто бы стоят на грани разрешающей способности микроскопа. По данным Срина (Srinath, 1946b), хромосом шесть пар; Рено (Renaud, 1938), сотрудник Гильермона, сообщил о наличии у дрожжей большого числа очень мелких хромосом. Гильермон (1940c) присоединился к этой трактовке.

В клетках из чистой культуры винокуренных дрожжей якобы могут быть 2, 3 или 4 хромосомы (Subramaniam u. Ranganathan, 1946b). У Torulopsis utilis авторы изображают 8 палочек, принимаемых ими за хромосомы (Mohanbabu a. Bakshi, 1946a).

Некритическое отношение к довольно пестрым цитологическим картинам, возникающим в препаратах в результате их обработки аммиаком, едкой щелочью, кислотами и резко меняющими клетку фиксаторами, приводит к опубликованию противоречивых и явно нелепых данных о форме, числе и поведении хромосом в дрожжевых клетках. Особенно грешат в этом отношении некоторые индусские исследователи (Srinath, 1946a, b; Mohanbabu a. Bakshi, 1946a, b). Если верить их рисункам, то хромосомы рассеяны по всей протоплазме и расположены то правильными продольными рядами, то лежат в вакуолях. Работы Ранганатана и Субраманиама (Subramaniam a. Ranganathan, 1945; Subramaniam, 1945; Ranganathan a. Subramaniam, 1947), описывающих двух- и четыреххромосомные митозы, производят несколько лучшее впечатление, но также требуют тщательной проверки.

Центросомы у дрожжей изображаются на рисунках в работах Рено (1938), Ранганатана и Субраманиама (1947).

Резюмируя этот раздел, следует признать, что вопрос о тонком строении делящегося дрожжевого ядра не может считаться решенным, наоборот, он основательно запутан. Прогрессу исследований в этом существенном с общеэволюционной точки зрения вопросе крайне вредят предвзятые формально-генетические представления, требующие подведения цитогенетической базы под явления наследственности и изменчивости.

Зарубежные, особенно американские, исследователи делают все возможное и даже невозможное, чтобы подтвердить теорию гена на микроорганизмах и, в частности, на дрожжевых. Гипотеза о существовании генов, контролирующих отдельные, будто бы не зависимые друг

от друга клеточные функции, именно и приводит к абсурдному представлению о клетке, как мешке, наполненном ферментами, катализирующими взаимно не связанные биохимические процессы. Все приносится в жертву формально-генетической трактовке фактов. Если факты, как то имеет место в процессах наследственности и ее изменчивости у дрожжей, противоречат концепции гена, то эта концепция подправляется новыми, еще более спекулятивными «теориями». Когда Линдегрену нехватило генов для объяснения обнаруженных им же новых фактов, то была придумана «теория цитогена» (Lindegren, 1946; Lindegren a. Lindegren, 1946).

* * *

Подводя общий итог основных результатов изучения дрожжевой клетки за последние 15—20 лет, нельзя не отметить, что почти все зарубежные исследования в этой области развивались под прямым или косвенным влиянием формальной цитогенетики. В связи с этим особенно интенсивной, но безрезультатной разработке с морфологической стороны подвергалась проблема хромосомного строения ядерного аппарата, а с биохимической стороны — нуклеопротеидный компонент дрожжевой клетки. Это очень сузило проблематику, исключило из сферы внимания исследователей другие, столь же важные, как ядро, клеточные стуктуры и клетку как целое. Этим же объясняется продолжающийся и углубляющийся разрыв между морфологической и физиологической сторонами изучения дрожжевых организмов.

В нашей стране за последнее время активно разрабатывается функциональная морфология дрожжевых организмов, которая должна выяснить тонкие взаимоотношения между структурной и функциональной организацией клетки и установить связь функционально-морфологического типа клетки с условиями ее существования и развития. Первыми, поставившими эту проблему, были Виноградский в работе «О влиянии внешних условий на развитие Mycoderma vini» (1884) и Омелянский, неоднократно подчеркивавший значение исследований морфологии и физиологии микроорганизмов в связи с составом среды и условиями существования (1916, 1925).

Автор этого обзора с товарищами по работе в своих исследованиях продолжают развивать эти заветы и указания наших выдающихся соотечественников [Мейсель (1935—1947); Мейсель и Заварзина (1947а); Мейсель и Медведева (1947); Мейсель и Трофимова (1946); Мейсель, Трофимова и Лисовская (1945); Медведева (1948); Одинцова (1939, 1940, 1941)].

Институт микробиологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 21. II. 1949

ЛИТЕРАТУРА

1. Алексеев А. Sur la structure des Bactéries. Les mitochondries et les grains métachromatiques chez les Bactéries et quelques autres protistes. C. R. Soc. Biol., 89, 728, 1923.
2. Алексеев А. Sur la question du noyau chez les Bactéries. Contribution à l'étude des mitochondries et des grains métachromatiques. Arch. Protisten, 49, 396, 1924.
3. Бах А. und Chodat R. Untersuchungen über die Rolle der Peroxyde in der Chemie der lebenden Zelle. II. Über Peroxydbildung in der lebenden Zelle. Ber deut. Chem. Ges., 35, 2466, 1902.
4. Белозерский А. О составе протоплазмы клеток Spirillum volutans в зависимости от возраста культуры. Микробиология, 10, 185, 1941.
5. Белозерский А. О ядре у бактерий. Микробиология, 13 (1), 23, 1944.
6. Белозерский А. Полинуклеиновые кислоты и их связь с эволюцией ядерного аппарата растительной клетки. Успехи совр. биол., 18, 42, 1944.
7. Белозерский А. Н. О химической природе волютина. Микробиология, 14, стр. 29—34, 1945.

8. Белозерский А. On the nucleoproteins and polynucleotides of certain bacteria. Cold Spring Harbor Symp. on Quant. Biol., **12**, I, 1948.
9. Бессонов Н. Über die Züchtung von Pilzen auf hochkonzentrierten rohrzuckerhaltigen Nährboden und über die Chondriomfrage. Ber. deut. bot. Ges., **37**, 136, 1919.
10. Брумберг Е. Новый метод микроскопии в ультрафиолетовом свете. ДАН СССР, XXV, 473, 1939.
11. Брумберг Е. М. Новый метод микроскопии в ультрафиолетовых лучах. Изв. АН СССР, серия физич., **6**, № 1—2, 1942.
12. Виноградский С. О влиянии внешних условий на развитие Mycoderma vini. Тр. Петерб. об-ва естествоиспытателей, **14**, 132, 1884.
13. Генкель П. О применении и значении фазово-контрастной микроскопии для биологических исследований. Микробиология, XV (6), 527, 1946.
14. Залесский В. Über die Rolle der Nucleoproteide in den Pflanzen. Ber. deut. bot. Ges., **29**, 146, 1911.
15. Замков В. Простое приспособление для флюоресцентной микроскопии. Микробиология, **17**, 400, 1948.
16. Иванов К. Ueber die Zusammensetzung der Eiweisstoffe und Zellmembranen bei Bakterien und Pilzen. Beitr. chem. Physiol. und Path., Z. ges. Biochem., **1**, 524, 1902.
17. Имшенецкий А. Die Feulgensche Nuklealreaktion bei Bakterien und Hefen. Ctbl. Bakt., II Abt., **94**, 330, 1936.
18. Имшенецкий А. Строение бактерий. АН СССР, 1940.
19. Исаев Б., Крисс А. и Рукина Е. Некоторые наблюдения над цитологией бактерий с помощью электронного микроскопа. Изв. АН СССР, серия биол., № 6, 678, 1945.
20. Кедровский Б. Über die Natur des Vacuoms. Z. Zellforsch. und mikr. Anat., **15**, 731, 1932.
21. Кедровский Б. О коллоидах развивающихся клеток (анаболитах). Биол. журнал, **6**, 1137, 1937.
22. Кедровский Б. Особенности коллоидного состава молодых клеток. Успехи совр. биол., **12**, 468, 1940.
23. Кедровский Б. Нуклеиновые кислоты клеточной протоплазмы, их значение для роста и развития и их роль в заживлении ран. Успехи совр. биол., **15** (3), 295, 1942.
24. Кедровский Б. О новой структуре в составе протоплазмы. Успехи совр. биол., **24**, 569, 1948.
25. Кравков Н. О химическом составе оболочек бактерий и о нуклеиновых веществах их тела. Врач, № 36, 1901.
26. Курсанов А. Обратимое действие ферментов в живой растительной клетке. АН СССР, 1940а.
27. Курсанов А. Действие ферментов в живой клетке. Сборник «Ферменты», под ред. Баха и Энгельгардта. АН СССР, 1940б.
28. Медведева Г. Биологические регуляторы жизнедеятельности розовых дрожжеподобных организмов. Диссертация. Ин-т микроб. АН СССР, 1948.
29. Мейсель М. Цитологическое изучение дрожжей в аллофорных культурах. Тр. Всесоюзного совещания по вирусам. АН СССР, 1935.
30. Мейсель М. Изменение хондриосом дрожжевых организмов при дыхании и брожении. ДАН СССР, XX, 481, 1938а.
31. Мейсель М. Об изменениях живой клетки под влиянием наркотических веществ. Бюлл. эксп. биол. и медиц., **6**, 295, 1938б.
32. Мейсель М. Цитология дрожжевых организмов в процессе спиртового брожения. Бюлл. экспер. биол. и медиц., **6**, 298, 1938в.
33. Мейсель М. Н. Перестройка протопласта дрожжевых организмов в процессе брожения. Микробиология, VIII, 381, 1939.
34. Мейсель М. Морфологические и физиологические изменения клеток под влиянием витамина B_1. ДАН СССР, XXIX, 127, 1940а.
35. Мейсель М. Успехи в развитии микроскопии. Микробиология, IX, 909, 1940б.
36. Мейсель М. Функционально-морфологический анализ значения витаминов для микроорганизмов. Микробиология, X, 649, 1941.
37. Мейсель М. Перестройка протопласта клетки под влиянием кокарбоксилазы и компонентов витамина B_1 (тиазола и пирамидина). ДАН СССР, 41, 262, 1943.
38. Мейсель М. О функциональном значении хондриосомного аппарата клетки. Бюлл. эксп. биолог. и медиц., **19**, 16, 1945.
39. Мейсель М. Особенности активирующего действия никотиновой кислоты на микробную клетку. ДАН СССР, **58**, 135, 1947а.
40. Мейсель М. Люминесцентная микроскопия и ее применение в микробиологии. Микробиология, XVI, вып. 6, 1947б.
41. Мейсель М. Биологическая регуляция строения и функций микробной клетки. Диссертация. Ин-т микробиологии АН СССР, Москва, 1947.
42. Мейсель М. и Заварзина Н. Действие карциногенных углеводородов на микробную клетку. Журн. общ. биол., **8**, 35, 1947а.

43. Мейсель М. и Заварзина Н. Флуоресцентно-микроскопические наблюдения над живыми клетками микроорганизмов. 1. Дрожжевые и дрожжеподобные микроорганизмы. Микробиология, XVI, вып. 5, 1947б.
44. Мейсель М. и Заварзина Н. Функционально-морфологический анализ действия сульфонамидов на клетку. Реф. научн. работ Отд. биол. наук АН СССР за 1945 г., стр. 139. АН СССР, 1947в.
45. Мейсель М. и Кондратьева Т. Хондриосомный аппарат в клетках низших растительных организмов. Микробиология, XIV (4), 244, 1945.
46. Мейсель М. и Медведева Г. Летучесть некоторых витаминов и возможность их использования микроорганизмами из воздуха. Биохимия, XII, 303, 1947.
47. Мейсель М. и Трофимова Н. Об использовании микроорганизмами летучих биокаталитических веществ. ДАН СССР, 53 (6), 577, 1946.
48. Мейсель М., Трофимова Н. и Лисовская Н. Ростовые вещества и их влияние на строение и жизнедеятельность дрожжевых организмов. Микробиология, XIV, 191, 1945.
49. Мейсель М. и Уманская В. О механизме действия на микробную клетку четвертичных аммонийных соединений. Микробиология, XVII, 1948.
50. Одинцова Е. Активирование бродильной функции дрожжевых организмов экстрактами растительных тканей. Диссертация, 1939, Ин-т микробиологии АН СССР.
51. Одинцова Е. Действие витамина B_1 на размножение Torula (Torulopsis) utilis. Микробиология, 9, 253, 1940.
52. Одинцова Е. Н. Влияние витамина B_1 на бродильную функцию микроорганизмов. Микробиология, X (6), 670, 1941.
53. Омелянский В. Очередные задачи современной микробиологии. Речь на годовом собрании Рос. Акад. Наук 2 февр. 1925 г. Отчет о деятельности АН за 1924 год.
54. Опарин А. Действие ферментов в живой клетке. Успехи химии, 3, 200, 1934a.
55. Опарин А. Die Wirkung der Fermente in der lebenden Zelle. Ergebn. Enzymforsch., 3, 57, 1934b.
56. Опарин А. И. Направленность действия ферментов в живой клетке. Тр. Москов. Дома ученых и Института биохимии, вып. 4, 5, 1940.
57. Рохлина Э. Клеточное ядро дрожжей и реакция Feulgen'a. Изв. АН СССР. Отд. матем. и естеств. наук, № 6, 855, 1933.
58. Селибер Г. Об определении осмотического значения дрожжевой клетки. Изд. Научн. ин-та им. Лесгафта, 20, вып. 3, 1937.
59. Селибер Г. и Р. Кацнельсон. Осмотическое значение дрожжевой клетки у различных дрожжей в связи с изменением концентрации сахара среды. Изв. Научн. ин-та им. Лесгафта, 17—18, 429, 1934.
60. Badian J. Sur la cytologie des levures. Bull. Acad. polon. Sci. math. et natur., S. B. No. 1/5, 61, 1937.
61. Bartholomew J. and Umbreit W. Ribonucleic acid and the gram stain. J. Bact., 48, 567, 1944.
62. Bayliss M., Glick D. and Siem R. Demonstration of phosphatases and lipase in bacteria and true fungi by staining methods and the effect of penicillin on phosphatase activity. J. Bact., 55, 307, 1948.
63. Beams H., Zell L. and Sulkin N. Cytological studies on yeast cells with special reference to the budding process. Cytologia, II, 30, 1940.
64. Bourne G. Mitochondria, Golgi Apparatus and Vitamins. Austr. J. Exp. Biol. and Med. Sci., 13, 239, 1936.
65. Brachet J. La détection histochimique des acides pentosenucléiques. C. R. Soc. Biol., 133, 88, 1940.
66. Brachet J. et Jeener R. Une méthode histochimique de dosage de l'acide nucléique et des nucléotides de la cellule de levure. Acta biologica belgica, 2, 268. 1942.
67. Brachet J. et Jeener R. Recherches sur des particules cytoplasmiques de dimensions macromoléculaires riches en acide pentosenucléique. Enzymologia, II (3), 196, 1944.
68. Brandt K. Physiologische Chemie und Cytologie der Presshefe. Ein Sammelbericht und neue Untersuchungen im ultravioletten Licht und an gefärbtem Material. Protoplasma, 36, 77, 1941.
69. Caspersson T. Über den chemischen Aufbau der Strukturen des Zellkernes. Skandinav. Arch. für Physiologie, 73 (Suppl. 8), 1, 1936.
70. Caspersson T. Studien über den Eiweissumsatz der Zelle. Naturwiss., 29, 33, 1941.
71. Caspersson T. und Brandt K. Nucleotidumsatz und Wachstum bei Presshefe. Protoplasma, 35, 507, 1941.
72. Cassaigne Y. Origine et évolution du vacuome chez quelques champignons. Rev. gén. bot., 43, 140, 1931.
73. Chantrenne H. Recherches sur des particules cytoplasmiques de dimensions macromoléculaires riches en acide pentosenucléique. II. Relation avec les ferments respiratinon. Enzymologia, 11, 23, 1944.

74. Chargaff E. and Zamenhof S. The isolation of highly polymerized desoxypentosenucleic acid from yeast cells. J. Biol. Chem., **173**, 327, 1948.
75. Claude A. Distribution of enzymatic activities in fractions of mammalian liver, A. A. A. S. Research Conference on Cancer, pages 223—226, 1944. The American Association for the Advancement of Science, 1945.
76. Claude A. Fractionation of mammalian liver cells by differential centrifugation. I. Problems, Methodes, and Preparation of Extract. II. Experimental procedures and results. J. Exp. Med., **84** (I), 51, 61, 1946.
77. De Lamater E. Basic fuchsin as a nuclear stain for fungi. Mycologia, **40**, 423, 1948.
78. Delaporte B. Sur les acides nucléiques des levures et leur localisation. Rev. gén. Bot., **51**, 450, 1939.
79. Delaporte B. et Roukhelman N. Sur la présence de la thymine dans l'acide nucléique extrait de la levure. Recherches cytologiques et chimiques. C. R. Acad. Sci., Paris, **206**, 1399, 1938.
80. Dufrenoy J. Comparative study of the vacuome and of related systems in plants and animals. Biodynamica, **5**, 137, 1945.
81. Euler H. und Hahn L. Ribonukleinsäuren und Ribonukleotide in Hefen. Ark. Kemi, Miner. och Geol. (A), **24**, 9, 1947.
82. Euler H. v. und Florell N. Über das Verhalten einiger Farbstoffe zu Hefezellen. Arkiv f. Kemi, Miner. och Geol. Stockholm, **7**, 18, 1919.
83. Guilliermond A. Remarques critiques sur différentes publications parues récemment sur la cytologie des levures et quelques observations nouvelles sur la structure de ces champignons. Ctbl. Bakt., II, Abt., **26**, 577, 1910.
84. Guilliermond A. Sur les mitochondries des champignons. C. R. Soc. Biol., **74**, 618, 1913.
85. Guilliermond A. La coloration vitale des chondriosomes. Bull. d'Histologie appl., **17** (9), 225, 1940a.
86. Guilliermond A. La coloration vitale des cellules de levures. Ann. Fermentat., **5**, 449 u. 513, 1940b.
87. Guilliermond A. Sexuality, developmental cycle and phylogeny of yeasts. Botan. Rev., **6**, 1, 1940c.
87. Guilliermond A. The Cytoplasm of the plant Cell. Published by Chronica Botanica Co., Waltham, Mass., 1944.
88. Guilliermond A. et Gautheret R. Sur la propriété des cellules végétales d'excréter le rouge neutre après l'avoir accumulé dans leurs vacuoles. C. R., **204**, 1520, 1937.
89. Guilliermond A. et Gautheret R. Action des bleu de Nil et de crésyl sur les levures: réduction et excrétion de ces colorants par les levures. C. R., **206**, 1848, 1938.
90. Guilliermond A. et Gautheret R. Sur la détermination du rH des cellules de levures (Saccharomyces cerevisiae). C. R. Soc. Biol., **130**, 1202, 1939a.
91. Guilliermond A. et Gautheret R. Action du pH sur la coloration vitale. C. R., **208**, 237, 1939b.
92. Guilliermond A. and Tanner F. The Yeasts. John Wiley and sons, N. Y., 1920.
93. Henrici A. The Yeasts Genetics, Cytology, Variation. Classification and Identification. Bact. Rev., **5**, 97, 1941.
94. Henry H. and Stacey M. Histochemistry of the Gram-staining reaction for microorganisms. Proc. Roy. Soc., B., **133**, 391, 1946.
95. Herwerden M. van. Über die Natur und die Bedeutung von Volutin in den Hefezellen. Proc. Sect. Sci. Konoklijke Akad. v. Wetensch., Bd. 20, Nr. 1, Amsterdam, 1917.
96. Holter H. Enzymverteilung im Protoplasma. Arch. exper. Zellforsch., **19**, 232, 1937.
97. Holter H. und Doyle W. Über die Localisation der Amylase in Amöben. C. R. Labor. Carlsberg, Sér. chim., **22**, 219, 1938.
98. Janssens F. A. A propos du noyau de la levure. La Cellule, t. XX, Fasc. 2, 335, 1903.
99. Janssens F. van de Putte E. et Helsmortel J. Le chondriome dans les champignons. La Cellule, **28**, 445, 1913.
100. Jeener R. et Brachet J. Les pentosenucléoprotéides combinés et libres au cours de la croissance des levures. Acta biologica belgica, 2, 273, 1942.
101. Jeener R. et Brachet J. Recherches sur l'acide ribonucléique des levures. Enzymologia, **11**, 222, 1944.
102. Joyet-Lavergne Ph. Glutation et chondriome. Protoplasma, 6, 84. 1929.
103. Joyet-Lavergne Ph. Nouvelles methodes générales pour la recherche du chondriome.— Leur application à l'étude des champignons. La Cellule, **43**, Fasc. I, 1934.
104. Joyet-Lavergne Ph. Recherches sur la catalyse des oxydo-réductions dans la cellule vivante. Protoplasma, **23**, 50—69, 1935.
105. Joyet-Lavergne Ph. Recherches sur les caractères physico-chimiques de la sexualité chez les champignons. Protoplasma, **26** (I), I, 1936.

106. Jeyet-Lavergne Ph. La vitamine A dans la cellule. Protoplasma, 28 (I), 131, 1937.
107. Kater J. Mc. Cytology of Saccharomyces cerevisiae with especial reference to nuclear division. Biol. Bull. Woods Hole, 52, 436, 1927.
108. Lazarow A. The chemical structure of cytoplasm as investigated in professor Bensley's laboratory during the past ten years. Biol. Symposia, Edited by Cattell, v. 10, Frontiers in Cytochemistry, 1943.
109. Levaditi C. et Veillet J. Détection histo-chimique de l'acide zymonucléique par la technique de Brachet. C. R. Soc. Biol., 138, 970, 1944.
110. Levan A. Mitotic disturbances induced in yeast by chemicals, and their significance for the interpretation of the normal chromosome conditions of yeast. Nature, 158, 626, 1946.
111. Levan A. Studies on the camphor reaction of yeast. Hereditas, 33 (4), 457, 1947.
112. Lindegren C. An analysis of the mechanism of budding in yeast and some observations on the structure of the yeast cell. Mycologia, 37, 767, 1945a.
113. Lindegren C. The induction of dormancy in vegetative yeast cells by fat and carbohydrate storage and conditions for reaction. Archiv Biochem., 8 (I), 119, 1945b.
114. Lindegren C. Yeast genetics: life cycle, cytology, hibridization, vitamin synthesis, and adaptive enzymes. Bact. Rev., 9, III, 1945c.
115. Lindegren C. Mendelian and cytoplasmic inheritance in yeasts. Ann. Missouri. Bot. Garden, 32, 107, 1945d.
116. Lindegren C. and Lindegren G. The cytogene theory. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biology, 11, 115, 1946.
117. Lindegren C. Function of volutin (metaphosphate) in mitosis. Nature, 159, 63, 1947.
118. Lison L. L'Histochimie animale. 1936.
119. Loele W. Über Beziehungen oxydierender Stoffe in Bakterien und Hefen zu den zelligen Oxydasen. Virchow's Archiv, 733, 1928.
120. Loele W. Über die Verwendbarkeit von Oxydationsreactionen mit Paraphenylendiamin in der Bakteriologie. Ctbl. Bakt., I Abt., Orig. 325, 1929.
121. Ludford R., Smiles J. and Welch F. The study of malignant cells by phasecontrast and ultra-violet Microscopy. J. Roy. Microscop. Soc., Ser. III, 68, I. 1948.
122. Mahdihassan S. Die Wasserstoffionenkonzentration im Zellinnern von Fusarium lini und Hefe. Biochem. Z., 226, 203, 1930.
123. Mangenot G. Sur la localisation cytologique des peroxydases et des oxydases. C. R., 186, 710, 1928.
124. Margolena L. Feulgen's reaction and some of its applications for botanical material. Stain Technol., 7, 9, 1932.
125. Meyer A. Orientierende Untersuchung über Verbreitung, Morphologie und Chemie des Volutins. Bot. Ztg., 62, 113, 1904.
126. Meyer A. Morphologische und physiologische Analyse der Zelle der Pflanzen und Tiere. Gustav Fischer, Jena, 1920.
127. Mohanbabu N. and Bakshi V. The chromosome number in Torula utilis. Current Science, 15, 164, 1946a.
128. Mohanbabu N. and Bakshi V. The Cytology of Yeast. Current Science, 15, 231, 1946b.
129. Nagel L. A cytological study of Yeast (Saccharomyces cerevisiae). Ann. Missouri Botan. Garden, 33 (3), 24, 1946.
130. Nagel L. Volutin. Botan. Rev., 14, 174, 1948.
131. Nickerson W., Krugelis E. and Andresen N. Localization of alkaline phosphates in yeast. Nature, 162, 192, 1948.
132. Rafalko J. A modified Feulgen technic for small and diffuse chromatin elements. Stain Technol., 21, 91, 1946.
133. Ranganathan N. B. and Subramaniam M. M. Centrosomes in yeasts. Science and Culture, 12, 478, 1947.
134. Renaud J. Sur la division du noyau des levures au cours du bourgeonnement: mise en évidence d'un centrosome et de la mitose. C. R., 206, 1918, 1938.
135. Srinath K. The Cytology of the yeast. Current Science, 15, 25, 1946a.
136. Srinath K. The chromosomes of Saccharomyces cerevisiae. Current Science, 15, 50, 1946b.
137. Strugger S. Beiträge zur Analyse der Vitalfärbung pflanzlicher Zellen mit Neutralrot. Protoplasma, 26, 56, 1936.
138. Subramaniam M. Induction of polyploidy in Saccharomyces cerevisiae. Current Science, 14, 234, 1945.
139. Subramaniam M. Studies on the cytology of yeasts. I. Mitosis in Saccharomyces cerevisiae. Proc. Nation. Inst. Sci. India, 12, 143, 1946. Biol. Abstr., 21, 1286, 1947.
140. Subramaniam M. and Ranganathan B. Mitosis during budding in Saccharomyces cerevisiae. Current Science, 14, 78, 1945.
141. Subramaniam M. and Ranganathan B. A new mutant of Saccharomyces cerevisiae. Nature, 157, 49, 1946a.

142. Subramaniam M. and Ranganathan B. Peculiar cytological behaviour of a distillery yeast. Nature, **157**, 50, 1946b.
143. Voit K. Über das Verhalten der Hefe zur Nuclealfärbung. Z. ges. exper. Med., **55**, 569, 1927.
144. Wager H. The nucleus of the yeast plant. Ann. Bot., **12**, 499, 1898.
145. Wager H. and Peniston A. Cytological observations on the yeast plant. Ann. Bot., **23**, 45, 1910.
146. Wiame J. Etude d'une substance polyphosphorée, basophile et métachromatique chez les levures. Biochem. et Biophys. Acta, **1**, 234, 1947.
147. Wiame J. Metaphosphate et corpuscules métachromatiques chez la levure. Rev. des Ferment. et Industr. alimentaires, **3**, 83, 1948.
148. Winge Ö. and Roberts C. Inheritance of enzymatic characters in yeasts, and the phenomenon of long-term adaptation. C. R. Lab. Carlsberg, Sér. physiol., **24**, 263, 1948.
149. Zamenhof S. and Chargarff E. Desoxypentosenuclease in yeast and specific nature of its cellular regulation. Science, **108**, 628, 1948.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ: МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И БИОХИМИЯ

Проценко Д. Ф. **О жиронакоплении у различных рас дрожжей.** Труды Киевского технологического института пищевой промышленности, вып. 6, стр. 79—81, 1947 г.

Автор на основании экспериментального материала выяснил, что при одинаковых условиях культивирования разных рас дрожжей одной и той же технологической группы (спиртовые, пивные, винные, пекарские) имеет место различное жиронакопление; так, например, киевские пекарские дрожжи накапливают до 2,64%, а московские — до 8,16% жира. Одновременно им установлено, что с накоплением жира в дрожжевых клетках пропорционально повышается их теплотворная способность. Так, киевская пекарская раса имеет теплотворную способность 4,022 кал., а московская пекарская раса имеет теплотворную способность 5,926 кал.

Это обстоятельство автор кладет в основу нового способа отбора рас дрожжей для получения наиболее жиронакапливающих дрожжевых культур. Автор описывает метод определения теплотворной способности навески исследуемой культуры, суть которого заключается в сжигании 1 г навески в калориметрической бомбе; другая такая навеска идет для определения процентного содержания жира в приборе Сокслета.

А. Фатеев

А. Е. Фомин. **Факторы жизнедеятельности азотобактера и эффективность биопрепарата азотобактерина.** Научный отчет Института зернового хозяйства Юго-Востока СССР за 1943—1945 гг. Саратов, 1947.

Исследования производились над каштановыми черноземными почвами Саратовской, Сталинградской, Пензенской и Уральской областей.

Изучалась жизнедеятельность азотобактера в черноземных и каштановых почвах, в пойменных образованиях, на старопахотных и залежных землях, под различными полевыми, огородными и садовыми растениями, а также в паровой почве и в ризосфере различных растений при бактеризации.

В почвах Юго-Востока, независимо от содержания в них гумуса, азота и фосфора, азотобактер в активной форме встречался редко и в ограниченном количестве. Активные формы азотобактера чаще всего обнаруживались в почве поймы, в садовых и огородных участках.

Распространение азотобактера в природных условиях тесно связано с видом растений и условиями их культивирования.

Азотобактер встречался в посевах картофеля, свеклы, люцерны, бахчевых и огородных растений и приживался на этих растениях при бактеризации. При сухом земледелии азотобактер не обнаруживался в посевах пшеницы, проса, гречихи, житняка, подсолнечника, конопли и не приживался при бактеризации этих растений.

Трехлетнее испытание биопрепарата азотобактерина на различных растениях повышало урожай: проса — на 1,2 ц, картофеля на 2,3 и 6,4 ц, томатов на 41,0 и 51,8 центнера.

Положительного действия биопрепарата не наблюдалось на яровой пшенице как в посевах с применением навозного и фосфорного удобрений, так и без удобрений.

А. Тимофеева

Порфирьев В. Б. **Роль микроорганизмов в образовании и метаморфизме нефти.** Труды Львовского геологического общества при Гос. университете им. И. Франко. Серия геологии нефти, вып. 1, стр. 3—18, 1948.

Статья представляет собой рассмотрение микробиологических и геологических работ по вопросу о происхождении нефти биохимическим путем.

Отсутствие нефтяных углеводородов в донных илах современных бассейнов и в свежих глинистых породах, быстрое уплотнение, обезвоживание глинистых пород и геотермический градиент, делающие невозможным существование микроорганизмов на глубинах, отсутствие убедительных опытов по получению нефтяных углеводородов в результате жизнедеятельности микроорганизмов в лабораторных условиях, а также ряд других моментов приводят автора к выводу, что нефть не могла образоваться в результате непосредственного воздействия биохимических факторов на исходную органику. Микрофлора, по мнению автора, попадает в нефтяные коллекторы с водой,

генетически не связанной с нефтью. В дальнейшем эта микрофлора может развиваться за счет нефти, но процесс этот имеет незначительное распространение и не может оказать существенное воздействие на химическую природу нефти.

Л. Осницкая

Порфирьев В. Б. и Гринберг И. В. **Геохимические основы генезиса нефти.** Труды Львовского геологического общества при Гос. университете им. И. Франко. Серия геологии нефти, вып. 1, стр. 18—70, 1948.

Авторы предлагают схему образования и метаморфизма природной нефти. Основным фактором, влияющим на образование нефти, принимается температура. Микробиологической деятельности отводится первая стадия превращения органики в нефть, происходящая при температуре не выше 100° и на глубинах до 1000 м. В результате биохимических процессов происходит гидролиз и омыление углеводно-жировой органики, накопление жирных кислот в форме высокооводненного коллоида. Затем происходит погружение на глубину до 3 000 м, где под действием температур от 100—250° происходит декарбоксилирование жирных кислот. Следующая стадия — образование природной нефти — происходит при погружении на глубину до 6 000 м и при температурах 300—500°; здесь имеют место процессы деструктивной гидрогенизации, образования непредельных углеводородов и превращения их. Таким образом, высокие температуры, начиная со второй стадии образования нефти, исключают возможность участия микроорганизмов в процессах образования или метаморфизма нефти.

Л. Осницкая

Р. М. Галачьян. **Диагностика бактериозов фасоли.** Известия Академии Наук Армянской ССР. Естественные науки. № 6, 1947.

Автор приводит результаты лабораторных исследований и полевых наблюдений над бактериозами фасоли в Ростовской области.

Исследования производились как на гербаризированном, так и на свежем материале, собранном в различных стадиях развития растений и в различной степени их пораженности. Проделано 259 бактериологических анализов и выделено 206 штаммов чистых культур различных возбудителей бактериозов. Изучены их морфологические, биохимические, патогенные и серологические свойства. На основании полученных данных автор заключает, что бактериозы составляют важнейшую и преобладающую группу болезней, поражающих фасоль. Вредность бактериозов сказывается на количественном и качественном снижении урожая. На различных сортах и видах фасоли состав фасоли фитопатогенных бактерий различен.

Наиболее вредными из всех бактериозов являются поражения, причиняемые Bact. phaseoli и Bact. medicaginis var. phaseolicola. Почти все выделенные штаммы возбудителей бактериозов при проверке их инфекционной способности оказались патогенными. Автор полагает, что единственным правильным методом диагностики бактериозов фасоли является бактериологический анализ образцов.

А. Тимофеева

McBee R. H. **The culture and physiology of a thermophylic cellulose-fermenting bacterium.** (Культивирование термофильной, сбраживающей целлюлозу бактерии и ее физиология.) J. Bact., v. 66, No. 5, pp. 653—665, 1948.

Выделение чистых культур, сбраживающих в анаэробных условиях целлюлозу термофильных бактерий производилось следующим образом. Обогащенная культура бактерий высевалась на минеральный агар с целлюлозой. Из появившихся через несколько дней на чашках Петри зон просветления производились высевы на агар с целлобиозой. Колонии, выросшие на агаре с целлобиозой, пересевались на минеральную среду с целлюлозой. Полученные этим методом чистые культуры термофильных бактерий при 55° сбраживали целлюлозу с образованием следующих продуктов брожения: CO_2, H_2, C_2H_5OH, муравьиной, уксусной, молочной, янтарной кислот и глицерина. В сумме эти продукты брожения составляли 70% от сброженной целлюлозы. В некоторых опытах были обнаружены целлобиоза и глюкоза. Автор полагает, что процесс разрушения целлюлозы имеет две стадии — гидролиз и сбраживание. Вначале процесс брожения идет быстро и все продукты гидролиза потребляются. Затем накопившиеся продукты брожения задерживают стадию сбраживания, но гидролиз продолжается, в результате чего накапливаются редуцирующие сахара — целлобиоза и глюкоза.

Л. Осницкая

Clark F., Banister N., Mitchell N. **Studies on the nutritional requirements of Schizosaccharomyces Pombé.** (Исследования потребностей Schizosaccharomyces Pombé в питании.) Arch. of Biochem., v. 17. No. 1, pp. 3—9, 1948.

Schizosaccharomyces Pombé плохо развивается на синтетических средах без добавления ростовых веществ. Установлено, что для хорошего роста необходимо добавлять биотина 0,1 γ на 100 мл, никотиновой кислоты — 100 γ, Са-пантотената — 100 γ, инозита — 1000 γ, тиамина 25 γ.

В качестве азотистого питания с одинаковым успехом можно применять гидролизат казеина и аммоний — конечный урожай получается одинаковым. Однако на гидролизате казеина рост несколько ускорен.

Дрожжевой экстракт в количестве 0,3% улучшает рост на синтетической среде. Следовательно, кроме упомянутых имеются еще и другие вещества, улучшающие рост.

И. Работнова

Snell E. E., Kitay E. and McNutt W. S. **Thyamin desoxyribosid as an essential growthfactor for lactic acid bacteria.** (Тиаминдезоксирибозид как существенный ростовой фактор для молочнокислых бактерий.) J. Biol. Chem., v. 175. No. 1, pp. 473—474, 1948.

Авторами найдено, что тиаминдезоксирибозид является существенным дополнительным фактором питания для Lactobacillus leichmanii 313, Lactobacillus leichmanii 327, Leuconostoc citrovorum и некоторых штаммов Lactobacillus acidophilus, обеспечивающим развитие этих организмов в присутствии избытка фолевой кислоты. Тиамин подобным действием не обладает. Таким образом авторы считают установленной причину отсутствия роста на искусственных средах у значительной группы молочнокислых бактерий: последние нуждаются в тиаминдезоксирибозиде (около 2—10 γ/мл).

Т. Г. Борисова и Е. Д. Грищенко

Machata H., Burris R., Wilson P. **Fixation of isotopic nitrogen by excised nodules.** (Фиксация изотопного азота отрезанными клубеньками.) J. Biol. Chem., v. 171. No. 2, pp. 605—609, 1947.

В изолированных клубеньках не удается наблюдать фиксацию азота. Это можно объяснить двумя причинами: тем, что в целом растении продукт фиксации моментально удаляется, а в изолированном клубеньке он накапливается и угнетает дальнейшую фиксацию, или тем, что растение дает промежуточный продукт, без которого фиксация невозможна. Такой продукт пока не найден.

Авторы работали в течение 5 лет, применяя метод определения изотопного N^{15}, как более чувствительный, чем метод Кьельдаля.

Применялись свежие клубеньки гороха, сои и коровьего гороха. К ним добавлялись как возможные промежуточные продукты щавелевоуксусная кислота, α-кетоглютаровая, лимонная, янтарная, а также зеленые листья. В некоторых случаях были взяты стерильные клубеньки со стерильных растений. Исследовались также клубеньки, появившиеся на растениях в атмосфере CO и H_2. Эти газы специфически угнетают фиксацию азота. После периода пребывания растений в атмосфере, содержащей эти газы, растения начинают усиленно фиксировать азот, повидимому, за счет накопления промежуточного продукта. Результаты получились очень непостоянные. Из 133 опытов в 21 была небольшая прибыль азота и в 10 — более значительная. Она получалась совершенно случайно. Никаких закономерностей наблюдать не удалось. Таким образом, вопрос о фиксации азота изолированными клубеньками остается нерешенным.

И. Работнова

Sletten O. and Skinner C. E. **Fungi capable of growing in strongly acid media and in concentrated copper sulfate solutions.** (Плесневые грибы, обладающие способностью расти в средах с сильными кислотами и в концентрированных растворах медного купороса.) J. Bact., v. 56, No. 5, pp. 679—683, 1948.

Выделенные из долго сохранявшихся склянок с 0,2 *N* H_2SO_4 2 вида плесневых грибов, идентифицированных приближенно, как Trichosporon cerebriforme, хорошо развивались при комнатной температуре на 1 *N*, 1,5 *N*, 2 *N* и 2,5 *N* растворах H_2SO_4 с добавлением 0,1% глюкозы и 0,1% пептона. Рост был заметен уже через 10 дней, но максимум развития наступал после культивирования в течение 50—100 дней.

Оба вида хорошо развивались в растворе 1 *N* H_2SO_4, содержавшем наряду с глюкозой и пептоном 28% $CuSO_4 \cdot 5H_2O$. Один вид гриба, выделенный из почвы, в течение 2 лет развивался на 1,5 *N* и 2 *N* растворах H_2SO_4. Аналогичные результаты были получены и с HCl в тех же концентрациях.

Л. Осницкая

Ward W. C. and Dodd M. C. **A comparative study of the in vitro bacteriostatic action of some simple derivatives of furan, thiophene and pyrrole.** (Сравнительное исследование бактериостатического действия in vitro некоторых простых производных фурана, тиофена и пиррола.) J. Bact., v. 56, No. 5, pp. 649—653, 1948.

Изучение бактериостатического действия in vitro простых производных фурана показало значение наличия нитрогруппы в молекуле для эффективности бактериостатического действия на грамположительных и грамотрицательных бактерий (S. aureus, S. hemolyticus, D. pneumoniae, E. thyphosa, E. coli, P. pyocyanea). Одновременно с этим было изучено бактериостатическое действие сернистых и азотистых аналогов фурана, тиофена и пиррола и их нитропроизводных. Исследуемые вещества вводились

в бульон с культурой в разных концентрациях, и через 24 или 96 часов по наличию или отсутствию роста определялась минимальная концентрация вещества, оказывающая бактериостатическое действие. Выяснено, что нитропроизводные фурана более ядовиты, чем таковые тиофена. Нитропроизводные пиррола практически не вызывают бактериостатических явлений.

Л. Осницкая

McIlwain H. **Preparation of cell-free bacterial extracts with powdered alumina.** (Приготовление свободных от бактериальных клеток экстратов с помощью порошкообразной окиси алюминия.) J. Gen. Microb., v. 2, No. 3, pp. 288—292, 1948.

Порошкообразная окись алюминия Al_2O_3 (употребляющаяся для металлографических работ) весьма пригодна для разрушения бактериальных клеток и получения свободных от клеток бактерий экстрактов, содержащих энзимы.

Раньше разрушение клеток достигалось растиранием бактерий с порошкообразным стеклом, причем приготовление порошкообразного стекла с соответствующего размера частицами — весьма затруднительная операция, в то время как частицы порошка окиси алюминия как раз требуемого размера. Было установлено, что экстракты, полученные в результате растирания бактерий с окисью алюминия, обладают большей энзиматической активностью, чем при растирании со стеклом, так как в последнем случае имеет место явление более сильной абсорбции энзимов. Полученные описанным методом экстракты из стрептококков вызывали реакции гликолиза, выделения аминогруппы из аденозиндифосфата и образования аммиака из аргинина. Использованная однажды, окись алюминия может быть очищена и с успехом вновь применена для работы.

Л. Осницкая

King H. K. and Hazel A. **The mechanical destruction of bacteria.** (Механическое разрушение бактерий.) J. Gen. Microb., v. 2, No. 3, pp. 315—325, 1948.

Методы разрушения спор и вегетативных тел бактерий механической обработкой маленькими инертными частицами имеют ряд преимуществ перед автолизом или применением различных химических агентов. Авторы подвергали ряд различных микроорганизмов (St. aureus, Bac. subtilis, Bact. mesentericus, M. smegmatis, Bact. coli и другие) очень сильному встряхиванию в лабораторной трясучке с стеклянными бусинками разного диаметра (0,8, 0,13 и 0,26 мм). Число добавляемых бусинок по отношению к весу бактерий и состав среды, в которой производилось встряхивание, были различными.

Оказалось, что обработка таким методом вызывала разрушение бактерий, но полная стерильность этим методом не достигалась, так как некоторое, правда небольшое, число клеток обладало устойчивостью к такой обработке. Устойчивые к механическому воздействию клетки по своим морфологическим и физиологическим свойствам не отличались от прочих.

Л. Осницкая

Zekalowski J. W. and Skarzynski B. **The breakdown of phenols and related compounds by bacteria.** (Разрушение фенолов и имеющих к ним отношение соединений бактериями.) J. Gen. Microb., v. 2, No. 3, pp. 231—239, 1948.

Из садовой почвы были получены 5 видов Achromobacter, способных развиваться в аэробных условиях на минеральной среде Gray и Thornton с 0,1% фенола в качестве единственного источника углерода; 0,15% фенола прекращали развитие культуры, а 0,2% фенола убивали культуру в течение 48 часов.

Тот факт, что бактерии развивались на глюкозе, ацетате и цитрате в несколько раз лучше, чем на феноле, заставляет думать, что способность к усвоению фенола бактерии проявляли только в отсутствие более легко усвояемых алифатических веществ. Процесс развития на феноле, очень медленный в первые два дня, возрастает к десятому дню до максимума, на котором держится три недели, после чего медленно снижается. Определение роста бактерий производилось как методом счета на пластинках, так и по определению мутности в приборе Spekker. Фенолы определялись по методу Theis и Benedict. Была изучена способность бактерий усваивать ароматические соединения и их замещенные на сульфо-, хлор-, амино- и нитрогруппы, продукты гидрогенизации бензола, а также карбоксильные и гидроксильные дериваты нафталина.

Л. Осницкая

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Антибиотики. Сборник рефератов и аннотаций иностранной периодической литературы. Под редакцией проф. А. Г. Пасынского. Гос. изд-ство иностранной литературы, вып. I—VII, 1948.

Открытие антибиотиков вызвало появление огромного числа исследований, посвященных их описанию, методам применения, технологии получения и т. д. Этой проблемой стали интересоваться представители различных специальностей: биологи, химики, врачи, инженеры. Поэтому вполне естественно, что для ознакомления с содержанием иностранных работ необходимо иметь периодически выходящие сборники с рефератами работ по антибиотикам. Появление таких сборников следует приветствовать, так как широкие круги советских научных работников получили возможность следить за литературой в этой области. Каждый выпуск построен по следующему принципу. Вначале помещена обзорная статья, затем рефераты сначала по пенициллину, далее — по стрептомицину и, наконец,— по другим антибиотикам; в конце сборника дается список иностранных работ, т. е. библиография, которая, как и рефераты, разбита на три группы. Обзорные статьи посвящены интересным и важным вопросам и написаны весьма лаконично. За это время в семи выпусках были опубликованы следующие статьи: «Основные направления научных исследований по пенициллину за границей», «Химия пенициллина», «Пенициллиназа», «Обзор химических методов определения пенициллина», «Микробиологические методы определения активности антибиотиков», «Основные этапы производства стрептомицина», «Приобретенная резистентность микроорганизмов к антибиотикам».

Статьи представляют значительную ценность, так как обилие литературы по антибиотикам затрудняет изучение работ в оригинале, особенно по разделам, далеким от непосредственных интересов читателя. Следует только пожелать, чтобы обзоры всегда были написаны ясно, просто и по возможности разбирали конкретные вопросы. Необходимо всячески избегать таких фраз, как «при биосинтезе стрептомицина играет роль количество посевного материала» (вып. 6, стр. 8). Естественно, что читателя не удовлетворяет такая общая формулировка,— следует дать соответствующее пояснение.

Каждый сборник содержит значительное число рефератов. Это дает основание журналу «Микробиология» не помещать рефератов статей, посвященных антибиотикам. Что касается реферирования иностранных работ в рецензируемых сборниках, то необходимо сделать следующие замечания.

Прежде всего следует отметить, что выбор рефератов носит в значительной мере случайный характер: отсутствует ряд интересных работ, на которые ссылаются авторы обзорных статей и с более подробным содержанием которых читатель хотел бы познакомиться.

Все рефераты написаны в повествовательном тоне. Нет критических замечаний, кратких сопоставлений и т. п. Реферат, проредактированный специалистом, сильно выигрывает, если одновременно отмечаются недостатки и ошибки, имеющиеся в работе. Такие замечания могут быть краткими, заключенными в скобки. Некритическое отношение к исследованиям, рефераты которых помещены в сборниках, сильно снижает их ценность. Такой «объективизм» для развития науки вреден.

Неприятное впечатление оставляет недостаточно тщательная редакция рефератов. Советский научный работник — требовательный читатель. Он вправе рассчитывать на точность сведений, ясность изложения и грамотную редакцию текста. В ряде рефератов содержатся термины и выражения, ставящие читателя в тупик. Так в выпуске первом на стр. 27 говорится о «клеточном фильтре»; на русском языке такого термина нет и остается совершенно неясным, как производилась адсорбция пенициллиназы. Там же, на стр. 51 написано: «Некоторые виды грибков высшего типа (съедобные и несъедобные)». Фраза неудачная, так как термины «грибки» по отношению к съедобным грибам совершенно не применяются. Здесь же многократно сообщается о «туберкулезных бациллах», хотя известно, что возбудитель туберкулеза относится к микобактериям, а не к формам, образующим споры, т. е. бациллам.

Во втором выпуске (стр. 33) говорится об изменениях, которым подвергаются клетки бактерий под влиянием пенициллина, и, в частности, имеется следующая фраза: «они (т. е. клетки) разбухают, сильно увеличиваются в объеме и принимают вид раковин с окрашенной периферией». Нужна большая фантазия, чтобы согласиться с тем, что бактерии могут иметь сходство с раковинами, так как раковины могут иметь самую различную форму. Некоторые фразы вызывают недоумение.

Например (стр. 27), сообщается: «Не удалась также попытка получения высокого выхода пенициллина путем селекции (т. е. отбора.— *А. И.*) слабо продуцирующих штаммов». Естественно, что, отбирая малоактивные штаммы, никогда не получишь высоких выходов пенициллина. Очевидно, референт хотел сказать что-то другое. Благодаря недосмотру автора и редактора глицерин отнесен к углеводам, а углеродное питание названо углеводным, т. е. термином, вообще не применяемым к микробам (вып. 6, стр. 9). Название грибка, образующего стрептомицин, не всюду напечатано правильно (вып. 6, стр. 12, 31, 32, 44). Авторы иногда прибегают к нежелательным попыткам ввести в русский язык новые термины: «коагулязная реакция» вместо свертывание молока, «инокулюм» вместо посевной материал, «друк-фильтр» вместо фильтрации под давлением, «аддитивный» и т. д. При перечислении отдельных этапов производства стрептомицина вышла путаница с падежами (вып. 6, стр. 15). Совершенно не нужно, написав «стрептомициновый комплекс», писать в скобках «Steptomycin complex» по-английски, а после «стрептомициновые остатки» — «Steptomycin residue». Перевод этих терминов на русский язык дает вполне ясное представление. В выпуске 7 на стр. 19 идет речь об «искусственных штаммах», что мешает сразу уловить смысл фразы, так как естественно, что искусственных микробов не может быть. В том же выпуске на стр. 52 говорится о том, что мышь получала 1,5 г хлоромицетина в день. Повидимому, это опечатка. Говоря о лечении эпидемического тифа хлоромицетином, следует пояснить, о каком тифе идет речь — сыпном или брюшном.

Число неудачных выражений, туманных мест, стилистических погрешностей и ошибок научного характера можно было бы увеличить, но думаем, что и сказанного достаточно. Особенно досадно, что из-за плохой редакции и недостаточно внимательной работы корректоров не всеми литературными ссылками можно пользоваться. В списках литературы не всегда приводятся, как это полагается, три цифры: год, том и страница, например, на стр. 19 и стр. 21 первого выпуска. Иногда даются неверные ссылки. Так, на стр. 19 первого выпуска в списке литературы приводится работа Сэнсома о получении новых рас гриба пенициллиума под влиянием камфоры. В указанном месте журнала этой статьи нет.

Отмечая ряд неточностей и редакционные погрешности, мы надеемся, что в дальнейшем их число будет все время уменьшаться. Систематический выход в свет реферативных сборников по антибиотикам надо приветствовать. Одновременно хочется высказать некоторые пожелания.

1. Передовые обзорные статьи значительно выиграли бы, если бы они посвящались более узким вопросам. Это давало бы возможность автору статьи останавливаться более детально на отдельных вопросах.

2. Обзорные статьи не должны содержать только пересказ результатов ряда работ. В них желательно иметь критический анализ разбираемых исследований.

3. Обилие медицинских терапевтических журналов, хорошо освещающих применение антибиотиков, позволяет поднять вопрос о том, чтобы реферативные сборники ограничивались реферированием работ по биологии, химии и технологии антибиотических веществ. Несомненно, что обилие литературы только по этим трем разделам вскоре потребует расширения объема сборников.

4. В конце каждого реферата желательно иметь фамилию референта. Это общее правило для всех реферативных журналов. В сборниках, к сожалению, это правило нарушено и при полном обезличивании появление плохого реферата заставляет читателя направлять свои претензии только к редактору.

В заключение можно пожелать большому коллективу научных сотрудников, участвующих в составлении сборников, успехов в их работе. Периодическое издание рефератов по антибиотикам — задача ответственная и крайне важная; широкие круги ученых и врачей, интересующихся антибиотиками, с большим интересом ознакомятся с содержанием сборников.

А. А. Имшенецкий

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

Статьи, посылаемые в редакцию, должны быть по возможности краткими (15—20 стр.) и тщательно отредактированы в рукописи. Никакие исправления в корректуре против рукописи не допускаются.

Рукопись, в том числе примечания и литература, должна быть четко переписана на машинке; на одной стороне листа с двумя интервалами. С левой стороны листа должны быть оставлены чистые поля (3—4 см). Страницы рукописи должны быть перенумерованы единой нумерацией, включая основной текст, таблицы, литературу и т. д. Обозначение за одним номером нескольких страниц (например: 21а, 21б) не допускаются. В конце рукописи должно быть обязательно краткое резюме (выводы), передающее содержание статьи, подпись автора, название учреждения, где была выполнена работа и точный адрес автора.

Таблицы должны быть полностью приведены в соответствующих местах текста. Подзаголовки таблиц должны быть краткими, но их необходимо писать полностью, без сокращений.

Иллюстрации должны быть даны в совершенно отчетливом виде и выполнены на белой бумаге или на кальке в туши. На полях рукописи указывается место рисунка, а в тексте на него дается ссылка. Фотографии печатаются только в случаях абсолютной необходимости, причем они должны быть контрастными и черных тонов. На обороте каждого рисунка должны быть поставлены: фамилия автора, заглавие статьи и страница рукописи, к которой относится рисунок.

Литература. Приводить названия цитируемых работ в тексте статьи или в сносках не разрешается. Вся литература должна быть сведена в особый список, помещаемый в конце статьи. Перечень литературы располагается в алфавитном порядке авторов и нумеруется; для русских и иностранных работ составляются самостоятельные алфавитные списки.

Отдельные работы одного и того же автора располагаются в хронологической последовательности; в случае наличия у автора нескольких работ одного года, они нумеруются строчными буквами алфавита (1927a; 1927b; 1927c).

В списках литературы должны даваться нижеследующие данные: а) фамилия, б) инициалы, в) название работы, г) название журнала (для книги — место издания), д) том, страница и год.

Ссылки на литературу в тексте статьи помещаются в скобках с указанием номера по списку литературы.

Никакие сокращения слов, имен, названий как правило не допускаются. Допускаются лишь общепринятые сокращения — мер физических, химических и математических величин и терминов и т. п.

Все меры должны даваться в метрической системе, а температура по шкале Цельсия.

Рукописи, оформленные без соблюдения настоящей инструкции, не будут рассматриваться редакцией.

СОДЕРЖАНИЕ

Памяти почетного академика. Н. Ф. Гамалея 201
С. И. Кузнецов. Применение микробиологических методов к изучению органического вещества в водоемах 203
А. А. Имшенецкий. Оптимальные питательные среды для анаэробных целлюлозных бактерий 215
Н. А. Красильников. Микрофлора лишайников 224
Л. И. Солнцева. О строении уксуснокислых бактерий 233
С. Р. Мардашев, Р. Н. Этингоф и Л. Я. Мармалевская. О влиянии pH среды на образование декарбоксилирующих энзимов у бактерий . 238
Г. А. Ярмола. Ацетоно-этиловое брожение. Сбраживание трехуглеродных соединений ацетоно-этиловыми бактериями 245
С. А. Коновалов. Питательная ценность различных азотистых соединений для дрожжей 250
М. В. Горленко и И. В. Воронкевич. Возбудители бактериальных пятнистостей томатов и мака 257
М. Н. Мейсель. Строение клеток дрожжевых организмов (Обзор) 263
Рефераты 282
Критика и библиография 286

Подписано к печати 11.V.1949 г. А 04092 Уч.-изд. л. 8,7
Тираж 4800 экз. Зак. 2214 5½ печ. л.+1 вклейка

2-я типография Изд-ва Академии Наук СССР, Москва, Шубинский пер., д. 10

Цена 9 руб.

К СВЕДЕНИЮ ПОДПИСЧИКОВ

ПРОДОЛЖАЕТСЯ ПОДПИСКА НА СЛЕДУЮЩИЕ ЖУРНАЛЫ АКАДЕМИИ НАУК СССР НА 1949 ГОД СО ВТОРОГО ПОЛУГОДИЯ:

НАЗВАНИЕ ЖУРНАЛОВ	Колич. номеров в полугодие	Подписная цена за полугодие	
		Р.	К.
Автоматика и телемеханика	3	22	50
Биохимия	3	27	
Ботанический журнал	3	31	50
Вестник Академии Наук СССР	6	48	
Вестник древней истории	2	60	
Доклады Академии Наук СССР	18	180	
Журнал аналитической химии	3	18	
Журнал общей химии	6	90	
Журнал прикладной химии	6	63	
Журнал технической физики	6	72	
Журнал физической химии	6	72	
Журнал экспериментальной и теоретической физики	6	54	
Записки Всесоюзного минералогического общества	2	15	
Зоологический журнал	3	27	
Известия Академии Наук СССР, Отделение технических наук	6	90	
Известия Академии Наук СССР, Отделение химических наук	3	31	50
Известия Академии Наук СССР, серия биологическая	3	36	
Известия Академии Наук СССР, серия географическая и геофизическая	3	27	
Известия Академии Наук СССР, серия геологическая	3	45	
Известия Академии Наук СССР, серия истории и философии	3	27	
Известия Академии Наук СССР, Отделение литературы и языка	3	27	
Известия Академии Наук СССР, серия математическая	3	27	
Известия Академии Наук СССР, серия физическая	3	36	
Известия Академии Наук СССР, Отделение экономики и права	3	22	50
Известия Всесоюзного географического общества	3	31	50
Математический сборник	3	45	
Почвоведение	6	36	
Прикладная математика и механика	3	31	50
Природа	6	36	
Советское государство и право	6	54	
Советская этнография	2	45	
Успехи химии	3	24	
Физиологический журнал СССР им. Сеченова	3	36	

Подписка принимается

Конторой «АКАДЕМКНИГА» (Москва, Пушкинская, 23)

Книжным магазином «Академкниги» (Москва, ул. Горького, 6)

Отделениями конторы:

Ленинград — *Литейный проспект, 53-а;* Свердловск — *ул. Малышева, 58;* Ташкент — *ул. К. Маркса, 29;* Киев — *Б. Владимирская, 53* и во всех почтовых отделениях

На складе конторы «Академкнига» имеются отдельные номера журналов за прошлые годы